

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

**Departamento de Radiología y Medicina Física
(Radiología)**



TESIS DOCTORAL

**Utilidad de la perfusión por resonancia magnética con contraste
potenciada en T1 en la valoración de la Neoplasias de SNC y cambios
inducidos en la médula ósea de columna vertebral**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Julio Arévalo Pérez

Directores

Ana Ramos González

Kyung K. Peck

José Fermín Pérez-Regadera Gómez

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas

Departamento de Radiología y Medicina Física



**UTILIDAD DE LA PERFUSIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA
DINÁMICA CON CONTRASTE POTENCIADA EN T1 EN LA
VALORACIÓN DE NEOPLASIAS DE SNC Y CAMBIOS INDUCIDOS EN
LA MÉDULA ÓSEA DE COLUMNA VERTEBRAL**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Julio Arévalo Pérez

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas

Departamento de Radiología y Medicina Física



**UTILIDAD DE LA PERFUSIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA
DINÁMICA CON CONTRASTE POTENCIADA EN T1 EN LA
VALORACIÓN DE NEOPLASIAS DE SNC Y CAMBIOS INDUCIDOS EN
LA MÉDULA ÓSEA DE COLUMNA VERTEBRAL**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Julio Arévalo Pérez

Bajo la dirección de los doctores

Ana Ramos González

Kyung K. Peck

José Fermín Pérez-Regadera Gómez

Madrid, 2015

*L'expérimentateur qui ne sait pas ce qu'il cherche
ne comprend pas ce qu'il trouve.*

Claude Bernard.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	5
ABREVIATURAS CASTELLANO	9
ABREVIATURAS INGLÉS	13
SUMMARY	17
<i>INTRODUCTION</i>	19
<i>OBJECTIVES</i>	23
<i>MATERIALS AND METHODS</i>	24
<i>RESULTS</i>	25
<i>CONCLUSION</i>	26
<i>RESUMEN</i>	29
INTRODUCCIÓN	41
<i>INTRODUCCIÓN</i>	43
<i>FUNDAMENTOS FÍSICOS</i>	43
<i>RM PERFUSIÓN</i>	45
<i>RM PERFUSIÓN DSC</i>	47
<i>RM PERFUSIÓN DCE</i>	49
<i>SITUACIÓN ACTUAL DE LA TÉCNICA</i>	53
<i>APLICACIONES</i>	58

Diferenciación de fracturas vertebrales benignas frente a malignas utilizando RM perfusión potenciada en T1	58
RM perfusión y RM difusión en la clasificación de gliomas	62
RM perfusión potenciada en T1 como marcador no invasivo del estado de EGFRvIII	64
HIPÓTESIS	67
OBJETIVOS	71
MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS	75
<i>DIFFERENTIATING BENIGN FROM MALIGNANT VERTEBRAL FRACTURES USING T1-WEIGHTED DYNAMIC CONTRAST ENHANCED MRI</i>	
Abstract.....	79
Introducción.....	81
Material and Methods	83
Results	89
Discussion.....	95
<i>DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED PERFUSION MRI AND DIFFUSION WEIGHTED IMAGING IN GRADING OF GLIOMAS</i>	
Abstract.....	101
Introduction.....	103
Materials and Methods	105

Results	108
Discussion.....	114
Conclusion	118
 <i>T1-WEIGHTED DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED MRI AS A NON- INVASIVE BIOMARKER OF EGFRvIII STATUS.....</i>	
Abstract.....	121
Introduction.....	124
Materials and Methods	125
Results.....	128
Discussion.....	131
Conclusion	135
DISCUSIÓN	137
 <i>DISCUSIÓN INTEGRADORA.....</i>	
 <i>DIFERENCIACIÓN ENTRE FRACTURAS VERTEBRALES BENIGNAS Y MALIGNAS UTILIZANDO RM PERFUSIÓN POTENCIADA EN T1.....</i>	
<i>RM PERFUSIÓN Y RM DIFUSIÓN EN LA CLASIFICACIÓN DE GLIOMAS</i>	156
 <i>RM PERFUSIÓN POTENCIADA EN T1 COMO MARCADOR NO INVASIVO DEL ESTADO DE EGFRvIII</i>	
CONCLUSIONES	167
BIBLIOGRAFÍA	171

ANEXO 1: artículos publicados	187
ANEXO 2: informes de evaluación	215

AGRADECIMIENTOS

A mi familia fuente de apoyo constante e incondicional a lo largo de mi vida.

A mis amigos, mi segunda familia.

Al patronato de la Fundación Alfonso Martín Escudero, cuya beca me ha permitido llevar a cabo los estudios que componen esta tesis y ha propiciado el comienzo de mi aventura americana.

A Ana y Kyung por su interés y colaboración en la dirección de la tesis.

A mis compañeros que “ven todo en blanco y negro (y en escala de grises) a ambos lados del charco”.

A toda la gente que de forma directa o indirecta ha participado en la elaboración de este proyecto.

ABREVIATURAS CASTELLANO

RM Resonancia Magnética

SNC Sistema Nervioso Central

FSC Flujo Sanguíneo Cerebral

TTM Tiempo de Tránsito Medio

TP Tiempo al pico

Tmáx Tiempo máximo

BHE Barrera hematoencefálica

Gd Gadolinio

CTI Curva de Tiempo-Intensidad

EEE Espacio Extracelular Extravascular

Ktrans Permeabilidad capilar (min^{-1})

Ve Volumen fraccional del EEE (%)

Vp Volumen plasmático del capilar

GBM Glioblastoma

RPSR Porcentaje relativo de la recuperación de señal

OMS Organización Mundial de la Salud

ABC Área Bajo la Curva

ABREVIATURAS INGLÉS

DSC Dynamic Susceptibility Contrast

DCE Dynamic Contrast Enhanced

ASL Arterial Spin-Labeling

CBV cerebral Blood Volume

CBF Cerebral Blood Flow

MTT Mean Transit Time

AIF Arterial Input Function,

WHO World Health Organization

ROI Region Of Interest

VOI Volume Of Interest

EGFR Epidermal Growth Factor Receptor

FISH Fluorescent In Situ Hybridization

HIPPA Health Insurance Portability and Accountability Act

MRI Magnetic Resonance Imaging

SE Spin-Echo

STIR Short-T1 Inversion Recovery

AUC Area Under the Curve

ROC Receiver Operating Characteristic

DWI Diffusion Weighted Imaging

ECV Extra Cellular Volume

ADC Apparent Diffusion Coefficient

FLAIR Fluid Attenuation Inversion Recovery

RT-PCR Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

SUMMARY

INTRODUCTION

1.-Vertebral compression fractures in the thoracic or lumbar spine are a problem commonly encountered in daily clinical practice, particularly in elderly patients. Osteoporosis is the most common cause of compression fractures in this age group. However the spine is also a frequent location of metastatic and primary neoplastic disease that may result in pathologic fractures. Therefore differentiation between malignant from benign fractures due to osteoporosis can be challenging, especially among cancer patients who are prone to developing both types. Vertebral fractures are a very common concern in this cohort of patients who may be subject to long term use of steroids, chemotherapy, radiotherapy and frequently present with poor nutrition in addition to advanced age, factors that affect bone density. Most metastatic tumors as well as primary neoplasms such as multiple myeloma are characterized by the presence of osteolytic lesions presenting with decreased bone density and osseous structural weakness. Besides certain treatment regimens, for instance blocking sex hormones such as estrogen in breast cancer, can also affect bone mineral homeostasis. All these circumstances put these patients at higher risk for vertebral fractures. Magnetic resonance imaging (MRI) is a method for the detection and evaluation of bone-marrow pathologies to the point of becoming the imaging modality of choice for marrow metastatic disease. Typically, for the standard clinical assessment, a qualitative analysis based on T1-weighted spin-echo (SE) as well as short-T1 inversion recovery (STIR) sequences is performed.

However it is frequently difficult to distinguish between acute benign and pathologic compression fractures on conventional MR imaging since signal intensity changes are often similar. Morphological features can be helpful, but can be misleading. For instance, pathological fractures due to multiple myeloma are notorious for mimicking osteoporotic fractures, Marrow hyper signal on T2-weighted images in neoplastic disorders is mainly due to intracellular water whereas in acute fractures it reflects interstitial water (edema) thus complicating the characterization of fractures by using only conventional MR imaging .

2.- Gliomas account for nearly 30% of all brain and central nervous system tumors and 80% of all malignant brain tumors. Diffuse gliomas show a histologically continuous spectrum with varying grades of mitosis, necrosis, cellularity, and microvascular proliferation. The WHO has classified them as low-grade (grade II) or high-grade tumors (grades III and IV) based on their histopathologic characteristics. Low-grade gliomas are malignant, well-differentiated tumors. They are associated with a better prognosis than the high-grade gliomas. Accurate glioma grading is crucial for treatment planning and for determining the clinical outcome. Low-grade gliomas are usually subject to either strict follow-up or surgery. The treatment for high-grade gliomas is typically surgery, followed by concomitant radiation therapy and chemotherapy. Inaccurate grading represents a risk for the patient, since it could lead to an inappropriate therapy. Conventional histopathologic diagnosis has significant limitations: It is an invasive procedure that has

inherent sampling error, especially for difficult-to-access tumors amenable only to stereotactic biopsy, and inability to evaluate residual tumor tissue after surgery. MRI is a useful non-invasive imaging method for tissue characterization and glioma grading. Conventional MRI offers information on mass effect, edema, enhancement and necrosis that can be used to estimate tumor grade. However it has limitations for the grading of gliomas. In fact, prior studies have suggested that contrast enhancement alone is inadequate for tumor grading, since some low-grade gliomas may exhibit enhancement while some high-grade tumors may not. Enhancement may simply reflect disruption of the blood-brain barrier and increased vessel leakiness, rather than the neovascularity and angiogenesis that are the hallmarks of high-grade gliomas.

3.- Glioblastoma is the most common and aggressive primary brain tumor. A highly malignant tumor, it is associated with a dismal median survival of only 14 months with standard radiochemotherapy. Glioblastoma is characterized by histologic heterogeneity with areas of active cellular proliferation and mitoses admixed with areas of necrosis. Large-scale genetic sequencing has revealed “driver” mutations in several common pathways that contribute to glioblastoma growth. Among these, over-activation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) membrane tyrosine kinase receptor pathway contributes to rapid aberrant cell proliferation and drives tumor growth and development. EGFR variant III (EGFRvIII) is the most common EGFR mutation in glioblastoma, occurring in 25-35% of cases. EGFRvIII is

characterized by deletion of exons 2-7 in the extracellular domain, rendering the receptor constitutively active. EGFRvIII status is determined either through exon sequencing or fluorescence in-situ hybridization (FISH) on tumor specimens. The growing interest in EGFRvIII-specific therapy and other EGFR-targeted treatments for glioblastoma demands a better understanding of the correlation between molecular changes in tumors and neuro-imaging features. Prior studies have demonstrated a correlation of T2* dynamic susceptibility contrast (DSC) MRI perfusion with EGFR amplification and EGFRvIII mutations.

Recently, new contrast mechanisms allow a quantitative analysis of various physiologic aspects of bone and brain parenchyma. Dynamic contrast-enhanced (DCE) MRI perfusion imaging permits to obtain functional information on tumor vascularity and hemodynamics unavailable from standard MRI. A quantitative assessment of vascular features can be achieved by applying a pharmacokinetic model of contrast uptake to the calculated signal intensity changes over time. Considering a 2-compartment kinetic model, the contrast agent is presumed to be distributed in the blood plasma volume, leaking in a time-dependent manner into the interstitium, allowing improved characterization of tumor vascularity through quantification of plasma volume (VP) and improved characterization of tumor leakiness through calculation of the contrast transfer coefficient K^{trans} .

This thesis seeks to throw some light into understanding the use of T1-weighted DCE-MRI establishing the role of this technique in differentiating

benign and pathologic vertebral fractures, classifying gliomas and distinguishing molecular subpopulations of glioblastoma. DCE-MRI represents a potential diagnostic tool that can be used indistinctively on brain parenchyma and bone marrow to address all the above mentioned challenges in an integrated way, not only helping in the diagnostic process and management of the patients but also unraveling the physiology and hemodynamics of neoplastic processes in both central nervous system (CNS) and spine.

OBJECTIVES

Our main goal is to investigate the utility of DCE-MRI perfusion in the evaluation of primary and metastatic tumors of the CNS and spine through the development and selection of imaging biomarkers that would facilitate the process of decision-making and help in the therapeutic management of patients with neoplastic lesions in the CNS and in the spine (primary and metastatic). We also aim to assess the prognostic value of different kinetic and hemodynamic parameters of this technique in these patients.

Specific objectives

- 1.- To assess, using a 2-compartment pharmacokinetic model analysis, the diagnostic value of DCE-MRI perfusion parameters as a non-invasive method to distinguish between pathologic and benign vertebral fractures.

2.- To evaluate the sensitivity and specificity of V_p , K_{trans} and ADC for distinguishing low- from high-grade tumors non-invasively. We hypothesized that T1-weighted DCE-MRI perfusion parameters would perform better than ADC in discriminating between glioma grades.

3.- To examine the relationship between T1-weighted DCE-MRI perfusion parameters and EGFRvIII status in patients with newly diagnosed glioblastoma. We hypothesized that patients with positive EGFRvIII glioblastomas would demonstrate increased perfusion and leakiness at DCE-MRI as compared to patients with EGFRvIII-negative glioblastomas.

MATERIALS AND METHODS

1.-Consecutive patients with vertebral fractures who underwent DCE-MRI, biopsy and kyphoplasty were reviewed. Forty-seven fractures were separated into pathologic and benign fractures. Benign fractures were in turn separated into acute and chronic fractures for further comparison. ROIs were placed over fractured vertebral bodies. Perfusion parameters: V_p , K^{trans} , wash-in slope, peak enhancement and AUC were measured and compared between the 3 different groups of fractures. A Mann-Whitney U test was conducted to assess the difference between the groups.

2.- Sixty-three consecutive patients with pathologically-confirmed gliomas who underwent baseline DWI and DCE-MRI were enrolled. The patients were classified by histopathology according to tumor grade: 20 low-grade

gliomas (grade II) and 43 high-grade gliomas (grades III and IV). Volumes-of-interest were calculated and transferred to DCE perfusion and ADC maps. Histogram analysis was performed to determine mean and maximum values for V_p and K_{trans} , and mean and minimum values for ADC. Comparisons between high-grade and low-grade gliomas, and between grades II, III and IV, were performed. A Mann-Whitney U test at a significance level of corrected $p \leq 0.01$ was used to assess differences.

3.- Eighty-two consecutive patients with glioblastoma and known EGFRvIII status who had DCE-MRI before surgery were evaluated. Volumes-of-interest were drawn around the entire enhancing tumor on contrast T1-weighted images and then transferred onto coregistered DCE-MRI perfusion maps. Histogram analysis with normalization was performed to determine the relative mean, 75th percentile and 90th percentile values for plasma volume (rVP) and permeability transfer constant (rK^{trans}). A Wilcoxon rank-sum test was applied to assess the relationship between baseline perfusion parameters and positive EGFRvIII status. The ROC method was used to select the cutoffs of the DCE-MRI perfusion parameters.

RESULTS

1.-Pathologic fractures had significantly higher ($p < 0.01$) perfusion parameters (V_p , K^{trans} , wash-in slope, peak enhancement and AUC) compared with benign fractures. We also found significant differences ($p < 0.001$) in all

parameters between chronic and acute fractures. V_p and K^{trans} were able to differentiate between pathologic and acute fractures ($p<0.01$). No significant differences were found with peak enhancement ($p=0.21$) and AUC ($p=0.4$) between pathologic and acute fractures.

2.- All perfusion parameters could differentiate between high-grade and low-grade gliomas ($p<0.001$) and between grades II and IV, grades II and III and grades III and IV. Significant differences in minimum ADC were also found ($p<0.01$). Mean ADC only differed significantly between high and low grades and grades II and IV ($p<0.01$). There were no differences between grades II and III ($p=0.1$) and grades III and IV ($p=0.71$).

3.- Increased rVP and increased rK^{trans} parameters were both significantly associated with positive EGFRvIII status. For EGFRvIII-positive tumors, rVP mean = 9.3, rK^{trans} mean = 6.5; for EGFRvIII-negative tumors, rVP mean = 3.6, rK^{trans} mean = 3.7 (rVP mean $p<0.0001$ and rK^{trans} mean $p=0.008$). The predictive powers of rVP histogram metrics outperformed those of the rK^{trans} histogram metrics ($p\leq 0.004$).

CONCLUSION

1.- T1-weighted DCE-MRI has potential to differentiate between pathologic vs benign, acute vs chronic and most importantly benign acute vs pathologic vertebral fractures.

2.-When derived from whole-tumor histogram analysis, DCE-MRI perfusion parameters performed better than ADC in non-invasively discriminating low- from high-grade gliomas.

3.- DCE-MRI shows greater perfusion and leakiness in EGFRvIII-positive glioblastomas than in EGFRvIII-negative glioblastomas, consistent with the known effect of EGFRvIII on angiogenesis. Quantitative evaluation of DCE-MRI may be useful as a non-invasive tool for correlating EGFRvIII expression and related tumor neoangiogenesis. This may have implications for monitoring response to EGFRvIII-targeted therapies.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

1.- Las fracturas vertebrales por compresión en la columna torácica o lumbar son un problema común en la práctica clínica diaria, sobre todo en pacientes de edad avanzada. La osteoporosis es la causa más común de fracturas por compresión en este grupo de edad. Sin embargo, la columna vertebral es también un lugar frecuente de metástasis y neoplasias primarias que pueden resultar en fracturas patológicas. Por lo tanto, diferenciar entre las fracturas de etiología maligna de las fracturas benignas debidas a la osteoporosis puede ser un reto, especialmente entre los pacientes con cáncer, propensos a desarrollar ambos tipos de fractura. Las fracturas vertebrales son un problema muy común en este tipo de pacientes, los cuales pueden recibir un tratamiento a largo plazo de esteroides, quimioterapia y/o radioterapia, y que con frecuencia asocian un déficit nutricional, todos ellos factores, junto con la edad avanzada, que afectan la densidad ósea. La mayoría de los tumores metastásicos, así como las neoplasias primarias tales como el mieloma múltiple, se caracterizan por la presencia de lesiones osteolíticas que presentan una menor densidad ósea y una debilidad estructural ósea. Además, ciertos regímenes de tratamiento, como los basados en el bloqueo de hormonas sexuales como los estrógenos en el cáncer de mama, también puede afectar a la homeostasis mineral ósea. Todas estas circunstancias colocan a estos pacientes en un mayor riesgo de fracturas vertebrales. La resonancia magnética (RM) es un método para la detección y evaluación de las patologías de la médula ósea, siendo la modalidad de imagen de elección

para la detección de enfermedad metastásica ósea. Por lo general, para la evaluación clínica estándar, se realiza un análisis cualitativo basado en secuencias potenciadas en T1 spin-eco (SE), así como en secuencias T1 de inversión-recuperación (STIR).

Sin embargo, con frecuencia es difícil distinguir entre las fracturas por compresión benignas y las patológicas agudas mediante RM convencional, ya que los cambios de intensidad de la señal son a menudo similares. Sus características morfológicas pueden ser útiles, pero pueden ser engañosas. Por ejemplo, las fracturas patológicas debido a mieloma múltiple pueden imitar las fracturas de etiología osteoporótica, la señal medular hiperintensa en las imágenes potenciadas en T2 en trastornos neoplásicos se debe principalmente al agua intracelular, mientras que en las fracturas agudas refleja el agua intersticial (edema), lo cual complica la caracterización de fracturas mediante el uso de la RM convencional.

2.- Los gliomas representan casi el 30% de todos los tumores del cerebro y del sistema nervioso central y el 80% de todos los tumores cerebrales malignos. Los gliomas muestran un espectro histológico continuo, con diferentes grados de mitosis, necrosis, celularidad y de proliferación microvascular. La OMS los ha clasificado como tumores de bajo grado (grado II) o alto grado (grados III y IV) en base a sus características histopatológicas. Los gliomas de bajo grado son tumores malignos, bien diferenciados. Están asociados con un mejor pronóstico que los gliomas de alto grado. La clasificación precisa de un glioma es crucial para la

planificación del tratamiento y para determinar el resultado y evolución clínicos. Los gliomas de bajo grado suelen estar sujetos a seguimiento estricto o cirugía. El tratamiento de los gliomas de alto grado es típicamente quirúrgico, seguido de radioterapia y quimioterapia concomitantes. Realizar una clasificación inexacta representa un riesgo para el paciente, ya que podría conducir a una terapia inadecuada. El diagnóstico histopatológico convencional tiene importantes limitaciones: es un procedimiento invasivo que posee un error inherente de muestreo, sobre todo para los tumores de difícil acceso susceptibles sólo de biopsia estereotáctica, y no es capaz de poder evaluar el tejido tumoral residual después de la cirugía. La resonancia magnética es un método de imagen no invasivo útil para la caracterización de tejidos y para la clasificación de los gliomas. La RM convencional ofrece información sobre el efecto de masa, edema, realce y necrosis que pueden ser usados para estimar el grado del tumor. Sin embargo, tiene limitaciones para la clasificación de los gliomas. De hecho, estudios previos han sugerido que el realce tras la administración de contraste por sí solo es insuficiente para la gradación del tumor, ya que algunos gliomas de bajo grado pueden mostrar realce mientras que algunos tumores de grado alto no. El realce puede reflejar simplemente la interrupción de la barrera hematoencefálica y el aumento de la permeabilidad vascular, en lugar de la neovascularización y la angiogénesis que son las características propias de los gliomas de alto grado.

3.- El glioblastoma es el tumor cerebral primario más común y el más agresivo. Es un tumor altamente maligno, que se asocia con una reducida

supervivencia media, de sólo 14 meses empleando radioquimioterapia estándar. El glioblastoma se caracteriza por la heterogeneidad histológica con presencia de áreas de la proliferación celular activa y mitosis mezcladas con áreas de necrosis. Su secuenciación genética a gran escala ha revelado mutaciones "conductoras" en varias líneas o rutas comunes que contribuyen al crecimiento del glioblastoma. Entre éstas, el exceso de activación de la vía del receptor de membrana tirosina-quinasa del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) contribuye a la rápida proliferación celular aberrante e impulsa el crecimiento y desarrollo del tumor. La variante III del EGFR (EGFRvIII) es la mutación más común del EGFR en el glioblastoma, ocurriendo en el 25-35% de los casos. La variante EGFRvIII se caracteriza por la delección de los exones 2-7 en el dominio extracelular, lo que convierte al receptor en constitutivamente activo. El estado del EGFRvIII se determina bien mediante la secuenciación del exón, bien mediante fluorescencia de hibridación in situ (FISH) en muestras tumorales. El creciente interés en la terapia específica dirigida al EGFRvIII y al EGFR para el glioblastoma exige una mejor comprensión de la correlación entre los cambios moleculares en los tumores y sus características de neuroimagen. Estudios anteriores han demostrado una correlación de entre las secuencias de perfusión de RM potenciadas en T2 * DSC con la amplificación del EGFR y las mutaciones del EGFRvIII.

Recientemente, los nuevos mecanismos de administración del contraste permiten un análisis cuantitativo de varios aspectos fisiológicos del hueso y

parénquima cerebral. La RM perfusión DCE permite obtener información funcional sobre la vascularización del tumor y la hemodinámica, no disponible con resonancia magnética estándar. Se puede lograr una evaluación cuantitativa de las características vasculares mediante la aplicación de un modelo farmacocinético de captación de contraste a los cambios de intensidad de señal corregidos con el tiempo. Teniendo en cuenta un modelo cinético de compartimiento tipo 2, se presume que el agente de contraste está distribuido en el volumen de plasma sanguíneo, drenando de una manera tiempo-dependiente en el intersticio, lo que permite una mejor caracterización de la vascularización del tumor a través de la cuantificación del volumen de plasma (V_p) y la mejora de la caracterización del drenaje o permeabilidad tumoral a través del cálculo del coeficiente de transferencia de contraste K_{trans} .

Esta tesis pretende arrojar algo de luz en la comprensión de la utilización de las secuencias de RM dinámicas de perfusión potenciadas en T1, estableciendo el papel de esta técnica en la diferenciación entre fracturas vertebrales benignas y patológicas y clasificando los gliomas y las distintas subpoblaciones moleculares del glioblastoma. La RM perfusión DCE representa una herramienta de diagnóstico potencial que puede utilizarse indistintamente en el parénquima cerebral y en la médula ósea para abordar todos los retos antes mencionados de una manera integrada, no sólo para ayudar en el proceso de diagnóstico y manejo de los pacientes, sino también

para desentrañar la fisiología y la hemodinámica de procesos neoplásicos, tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en la columna vertebral.

OBJETIVOS

Nuestro principal objetivo es investigar la utilidad de las secuencias de RM perfusión DCE en la evaluación de los tumores primarios y metastásicos del sistema nervioso central y de la columna vertebral a través del desarrollo y selección de biomarcadores de imagen que podrían facilitar el proceso de toma de decisiones y ayudar en el manejo terapéutico de pacientes con lesiones neoplásicas en el SNC y en la columna vertebral (primario y metastásico). También tenemos como objetivo evaluar el valor pronóstico de los diferentes parámetros cinéticos y hemodinámicos de esta técnica en estos pacientes.

Objetivos específicos

1.- Evaluar, mediante un análisis de modelo farmacocinético de compartimiento tipo 2, el valor diagnóstico de los parámetros de las secuencias de RM perfusión DCE como un método no invasivo para distinguir entre las fracturas vertebrales patológicas y benignas.

2.- Evaluar la sensibilidad y especificidad del V_p , K_{trans} y ADC para distinguir tumores de bajo y alto grado de manera no invasiva. Barajamos la hipótesis de que los parámetros de las secuencias de RM perfusión DCE

potenciadas en T1 serían mejores que el ADC en la discriminación entre los grados de glioma.

3.- Examinar la relación entre los parámetros de las secuencias de RM perfusión DCE potenciadas en T1 y el estado del EGFRvIII en pacientes con diagnóstico reciente de glioblastoma. Planteamos la hipótesis de que los pacientes con glioblastomas EGFRvIII-positivos mostrarían un aumento de la perfusión y la permeabilidad en RM perfusión DCE en comparación con los pacientes con glioblastomas EGFRvIII-negativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

1.- Se revisaron pacientes de manera consecutiva con fracturas vertebrales que se sometieron a RM perfusión DCE, biopsia y cifoplastia. Cuarenta y siete fracturas fueron separadas en fracturas patológicas y benignas. Las fracturas benignas fueron a su vez divididas en fracturas agudas y crónicas para su posterior comparación. Los ROIs fueron colocados sobre los cuerpos vertebrales fracturados. Los parámetros de perfusión: Vp, Ktrans, pendiente de llenado, realce pico o máximo y el ABC se midieron y compararon entre los 3 grupos diferentes de fracturas. Se realizó un test de Mann-Whitney para evaluar la diferencia entre los grupos.

2.- Se evaluaron sesenta y tres pacientes consecutivos con gliomas confirmados histológicamente que se sometieron a una RM basal con difusión DWI y perfusión DCE. Los pacientes fueron clasificados por

histopatología de acuerdo con el grado tumoral: 20 gliomas de bajo grado (grado II) y 43 gliomas de alto grado (grados III y IV). Se calcularon y transfirieron sus volúmenes de interés a los mapas de perfusión y ADC. Se realizó un análisis de histogramas para determinar los valores medios y máximos de Vp y Ktrans, y la media y los valores mínimos de ADC. Se realizaron comparaciones entre los gliomas de alto grado y de bajo grado, y entre los grados II, III y IV. Se utilizó la prueba de U Mann-Whitney para un nivel de significación corregido de $p \leq 0.01$ para evaluar las diferencias.

3.- Se evaluaron ochenta y dos pacientes consecutivos con glioblastoma y estado del EGFRvIII conocido que poseían una RM perfusión DCE antes de la cirugía. Se obtuvieron los volúmenes de interés alrededor de todo el tumor en las imágenes de las secuencias potenciadas en T1 con contraste y luego transferidos a los mapas de RM perfusión DCE coregistrados. Se realizó el análisis de histogramas con normalización para determinar la media relativa, percentil 75 y percentil 90 para los valores de volumen de plasma (rVp) y la constante de transferencia de permeabilidad (rKtrans). Se aplicó el test de la suma de rangos de Wilcoxon para evaluar la relación entre los parámetros de perfusión basales y la existencia de estado EGFRvIII-positivo. Se utilizó el método ROC para seleccionar los puntos de corte de los parámetros de la RM perfusión DCE.

RESULTADOS

1.- Las fracturas patológicas tuvieron significativamente mayor parámetros de perfusión (Vp, Ktrans, pendiente de llenado, realce pico y ABC) en comparación con fracturas benignas ($p < 0,01$). También encontramos diferencias significativas ($p < 0,001$) en todos los parámetros al comparar entre fracturas crónicas y agudas. Vp y Ktrans fueron capaces de diferenciar entre fracturas patológicas y agudas ($p < 0,01$). No se encontraron diferencias significativas entre el realce pico ($p = 0,21$) y el ABC ($p = 0,4$) al comparar entre fracturas patológicas y agudas.

2.- Todos los parámetros de perfusión pudieron diferenciar entre gliomas de alto y bajo grado ($p < 0,001$) y entre los grados II y IV, los grados II y III y los grados III y IV. También se encontraron diferencias significativas en el valor mínimo de ADC ($p < 0,01$). El valor medio del ADC solamente diferió significativamente entre los grados altos y bajos y grados II y IV ($p < 0,01$). No hubo diferencias entre los grados II y III ($p = 0,1$) y los grados III y IV ($p = 0,71$).

3.- El aumento de los parámetros rVp y rKtrans se asoció significativamente con el estado de EGFRvIII-positivo. Para los tumores EGFRvIII-positivo, rVp media = 9,3, rKtrans media = 6,5; para los tumores-EGFRvIII-negativo, rVp media = 3,6, rKtrans media = 3,7 (media de rVP $p < 0,0001$ y media de rKtrans $p = 0,008$). Los poderes de predicción de las mediciones del histograma del rVp superaron a los del rKtrans ($p \leq 0,004$).

CONCLUSIÓN

1.- La RM perfusión DCE potenciada en T1 tiene potencial para diferenciar entre fracturas patológicas vs benignas, agudas vs crónicas y lo que es más importante entre fracturas agudas benignas vs patológicas.

2.-Cuando proceden del análisis del histograma de todo el tumor en su conjunto, los parámetros de perfusión de la RM DCE son más útiles que el ADC a la hora de distinguir de forma no invasiva entre gliomas de alto y bajo grado.

3.- La RM perfusión DCE muestra una mayor perfusión y permeabilidad en glioblastomas EGFRvIII-positivos que en los glioblastomas-EGFRvIII-negativos, en consonancia con el conocido efecto del EGFRvIII sobre la angiogénesis. La evaluación cuantitativa de la RM perfusión DCE puede ser útil como herramienta no invasiva para correlacionar la expresión del EGFRvIII y la neoangiogénesis tumoral. Esto puede tener implicaciones para la vigilancia de la respuesta a las terapias dirigidas al EGFRvIII.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

La resonancia Magnética (RM) es una técnica de imagen no invasiva que se utiliza para la obtención de información estructural y funcional del sistema nervioso central (SNC) y del cuerpo humano en general. Desde su uso clínico inicial en la década de 1980, la RM ha revolucionado el diagnóstico y tratamiento de una amplia variedad de enfermedades. Durante los últimos años, ingenieros, físicos y radiólogos han colaborado para desarrollar diversas mejoras en las técnicas de RM, como estrategias de adquisición de secuencias de impulsos, acortar los tiempos de adquisición de imágenes, mejorar calidad de imagen, y facilitar imagen funcional y anatómica avanzada. (1)

FUNDAMENTOS FISICOS

El fundamento de la RM se basa en un fenómeno físico denominado resonancia magnética nuclear mediante el cual determinados núcleos atómicos sometidos a un campo magnético pueden absorber y emitir radiación electromagnética a una frecuencia que viene determinada por la magnitud del campo magnético y las propiedades de los átomos.

El átomo de hidrógeno es la base de la imagen por resonancia magnética. Se eligió por su abundancia en los tejidos y su sencillez desde el punto de vista estructural. Los núcleos de hidrogeno (protones) en los tejidos, asocian un movimiento rotacional denominado spin y al tener una carga positiva esta rotación genera un campo magnético.

Los protones de H se comportan como pequeños imanes cuyos vectores se orientan de forma desordenada pero que al ser sometidos a un potente campo magnético (B_0) se alinean en la misma dirección del campo, unos en forma paralela al campo (baja energía) y otros de forma antiparalela (alta energía). La mayoría de los protones se alinean paralelamente a B_0 , debido a que esta situación requiere menos energía.

Los vectores de los protones describen un movimiento cónico denominado de precesión alrededor de B_0 , ya que presentan momento angular y momento magnético. La frecuencia de precesión (frecuencia de Larmor) es proporcional a la intensidad del campo magnético. Se puede dividir el vector magnético en dos componentes uno transversal (en el plano XY) y otro longitudinal (Z) al campo magnético.(2) El vector resultante de la suma de los momentos magnéticos M_{xy} y M_z denominado magnetización neta (M_0) se orienta en el plano longitudinal, ya que existen mas protones alineados de forma paralela al campo B_0 .

Al aplicar un pulso de radiofrecuencia los protones se excitan y cambian su nivel de energía. Se denomina relajación la vuelta al equilibrio magnético. Podemos hablar de relajación longitudinal, en relación con la recuperación del componente de la magnetización longitudinal debido a las interacciones de los protones excitados con el entorno o red, y se caracteriza por una constante de tiempo T_1 . La relajación transversal, que corresponde a la pérdida del componente de magnetización transversal causada por las

interacciones entre los protones, y se caracteriza por una constante de tiempo T2.

La energía emitida por los protones induce un voltaje que puede ser detectado por una antena que recoge la señal, es procesada y amplificada por un software y se genera una imagen digital con una matriz de pixeles que variarán en función del tiempo de relajación de cada tejido.

RM PERFUSION

El término perfusión engloba la distribución de sangre, oxígeno y nutrientes a los tejidos a través de las redes de capilares y los intercambios entre el torrente sanguíneo y el espacio extravascular. Rigurosamente, la perfusión cerebral se define como el proceso de liberación de nutrientes y oxígeno por vía sanguínea por unidad de volumen o masa y se mide típicamente en mililitros de sangre por 100g de tejido por minuto. Sin embargo, en la imagen de perfusión por RM este concepto se ha ampliado para tener en cuenta diversos parámetros microcirculatorios tisulares, como el volumen sanguíneo cerebral, el flujo sanguíneo cerebral (FSC), el tiempo de tránsito medio (TTM), el tiempo al pico (TP), o el tiempo máximo (Tmáx).(3)

Múltiples alteraciones han logrado ser valoradas con esta técnica, desde cambios inflamatorios, infecciones, tumores hasta alteraciones vasculares y enfermedades degenerativas. Desde un primer momento el principal objetivo de la técnica iba encaminado al perfeccionamiento de la visualización y

mejora de la resolución de las características morfológicas. (4) Recientemente se han logrado importantes mejoras en el campo de la valoración de las características funcionales de los tejidos. Gracias a los avances en estas técnicas se ha logrado mejorar el manejo diagnóstico, terapéutico y seguimiento de los pacientes. (4) En esta línea, los estudios de perfusión con RM se han convertido en una poderosa herramienta para la valoración no invasiva de la perfusión en el cerebro y otras partes de la anatomía. Se puede estudiar con diversos fines, ya sea para el diagnóstico y caracterización de una lesión o para establecer un pronóstico en función de una serie de factores de gravedad. (5)

Recientemente se ha logrado un desarrollo más ambicioso de la técnica orientado a la optimización de tratamientos y monitorización de los mismos. (6) Los cambios funcionales en la circulación preceden a los cambios morfológicos como el crecimiento tumoral y proporcionan resultados cuantificables que pueden servir como biomarcadores de imagen que asistan en la toma de decisiones. (7) Cada tejido tiene un sistema capilar con características propias adaptadas a una función específica; así los capilares cerebrales son prácticamente impermeables a diferentes sustancias entre ellas el contraste yodado o el gadolinio, esta circunstancia es conocida como barrera hematoencefálica (BHE). (5) Por otro lado los capilares sinusoidales hepáticos presentan fenestraciones con elevada permeabilidad. Además, el tejido enfermo presenta una configuración diferente al sano, lo que permite su identificación. La neoangiogénesis es frecuente en tejidos tumorales como

respuesta a estímulos de factores de crecimiento como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y demuestra una morfología y función diferente a las del tejido original. (8)

El desarrollo de las técnicas avanzadas de RM perfusión ha permitido combinar la obtención de información acerca de la microcirculación de los tejidos con datos morfológicos logrando gran resolución espacial e información funcional en un único estudio. (5)

Existen dos grandes grupos de técnicas de perfusión por RM: las que utilizan contraste paramagnético intravenoso y las que no. Al primer grupo corresponden las técnicas mas utilizadas, la técnica dinámica de susceptibilidad potenciada en T2*, *dynamic susceptibility contrast* (DSC) y la técnica dinámica de perfusion con realce de contraste, *dynamic contrast enhanced* (DCE) potenciada en T1. (9) Al segundo grupo pertenece la técnica de marcado arterial de spin, *arterial spin-labeling* (ASL). Esta técnica se caracteriza por la medida de la perfusión cerebral utilizando el marcado magnético sanguíneo como contraste endógeno, aunque es una técnica q se utiliza en investigación y muy esporádicamente en clínica. (9)

RM PERFUSIÓN DSC

La perfusión DSC se utiliza exclusivamente en el cerebro para evaluación de perfusión en isquemia cerebral y en tumores. Es uno de los métodos que utilizan contraste exógeno, y se basa en la inyección intravenosa de un agente de contraste paramagnético, como los quelatos de gadolinio (Gd) que son

trazadores no difusibles de acumulación de sangre, para generar un bolo bien definido. Esta técnica utiliza una rápida adquisición de imágenes para capturar el primer pase del agente de contraste. Después de inyectar el bolo del agente de contraste, y al ser este un material paramagnético, se produce una distorsión del campo debido al efecto de aumento de la susceptibilidad reduciendo transitoriamente el tiempo de relajación T_2 o T_2^* alrededor del vaso. (10-12)

Se han de considerar dos compartimentos: el intravascular y el extravascular. Cuando el trazador permanece intravascular, la compartimentación del agente de contraste crea fuertes gradientes de susceptibilidad microscópicos, que se extienden más allá del tamaño del vaso. El agente de contraste modifica los tiempos de relajación T_2 / T_2^* de la sangre. El cambio de tiempo de relajación T_2 / T_2^* es la diferencia entre antes y después de la inyección de contraste. Estos tiempos se modifican por desfase de los espines extravasculares creados por los gradientes de susceptibilidad, y por lo tanto se reducen en el compartimiento extravascular.(9) Utilizando los principios de la teoría de la dilución del indicador, la información de la señal entonces se puede convertir en una curva de concentración-tiempo. A partir de estos datos se pueden obtener mapas paramétricos de volumen sanguíneo cerebral de los que se derivan los siguientes parámetros fisiológicos cuantitativos como el volumen sanguíneo cerebral (CBV, *cerebral blood volume*), flujo sanguíneo cerebral (CBF, *cerebral blood flow*) y el tiempo medio de tránsito (MTT, *mean transit time*).

CBV: describe el volumen de la sangre de los capilares cerebrales y vénulas por volumen de tejido cerebral (ml/100 ml de tejido)

CBF: representa el flujo sanguíneo a través de un tejido por unidad de tiempo (ml/100 ml de tejido/min).

MTT: representa el tiempo medio de paso de un determinado volumen sanguíneo a través de la circulación capilar cerebral (s).

RM PERFUSION DCE

La perfusión DCE, al igual que DSC, también utiliza inyección de contraste paramagnético aunque en este caso se adquieren secuencias potenciadas en T1. Se analiza el patrón de realce temporal de un tejido tras la introducción de un agente de contraste paramagnético en el sistema vascular. (13) Esto se consigue mediante la adquisición de imágenes basales sin realce de contraste, seguido por una serie de secuencias potenciadas en T1 adquiridas con el tiempo (por lo general en unos pocos minutos) durante y después de la llegada del contraste al tejido de interés. La señal adquirida se utiliza para generar una denominada curva de tiempo-intensidad (CTI) para el tejido en cuestión, que refleja la respuesta del tejido a la llegada del contraste en los valores de realce. El análisis de esta curva permite obtener ciertas propiedades fisiológicas que están relacionadas con el flujo sanguíneo microvascular, tales como permeabilidad de los vasos, producto área de superficie del vaso y fracciones de volumen de tejido.

El principio en el que se basan los estudios de DCE consiste en la alteración de la intensidad de señal MR de un tejido debido a un acortamiento del tiempo de relajación T1 causada cuando una partícula paramagnética (medio de contraste) entra y se dispersa través de dicho tejido.(9)(14) Se adquieren las imágenes de RM cada pocos segundos antes, durante y después de que se inyecte el contraste. Cada imagen adquirida corresponde a un punto de tiempo, y cada píxel de cada conjunto de imágenes genera su propia curva de valores de intensidad. Dado que la variación inducida en intensidad de señal (en correlación con la concentración de contraste en el tejido) en cada punto de tiempo después de la inyección depende de la vascularización del tejido, la permeabilidad de los vasos, producto área de la superficie de los vasos, fracción de extracción, el flujo sanguíneo, etc, se pueden calcular mapas paramétricos de biomarcadores microvasculares específicos. (14)

De forma sintetizada, el conjunto de mediciones necesarias para la adquisición de los datos de DCE comienzan por la obtención de un mapa de valores de T1 basales pre-inyección, que servirá para el cálculo de las concentraciones de material de contraste.(15) En una segunda fase se adquieren las imágenes potenciadas en T1 antes y después de la inyección, utilizando una resolución temporal razonablemente alta con el fin de ser capaces de caracterizar la cinética de la entrada del contraste y su extravasación fuera del tejido.(16) Por último, la adquisición de la función de entrada arterial (*arterial input function*, AIF) permite la estimación de la concentración de contraste en el plasma sanguíneo de una arteria de

alimentación como una función del tiempo. La obtención de la AIF es esencial para casi todos los métodos de análisis cuantitativos y sigue siendo técnicamente la parte más difícil en el proceso de adquisición de datos.(14)

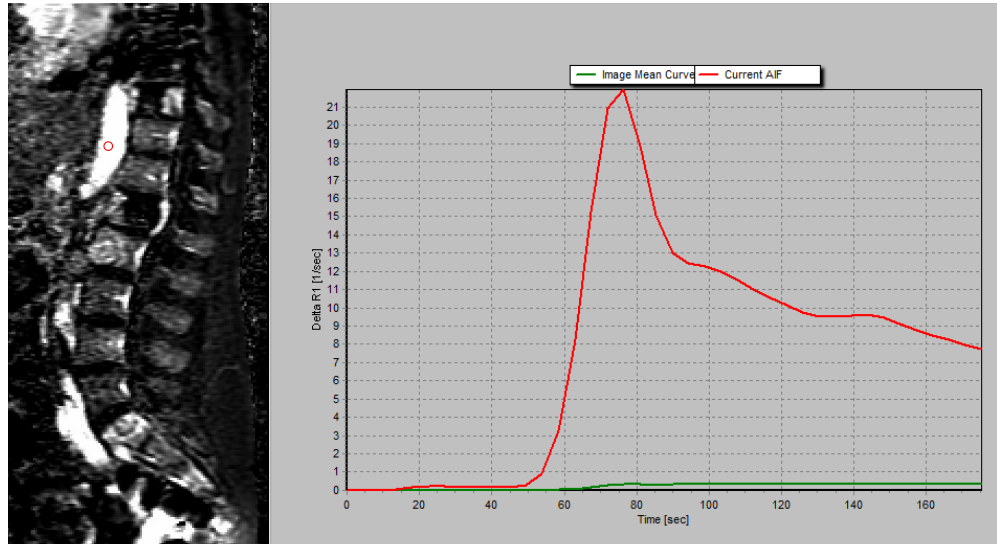


Figura 1.1 Ejemplo de detección de la función de entrada arterial (arterial input function, AIF) de la aorta utilizando el software dinámico de procesamiento de imágenes (NordicIce-NeuroLab, Bergen, Noruega). La AIF se calcula individualmente en cada adquisición de cada paciente. La forma apropiada de la curva AIF se confirma visualmente antes de continuar con el resto de las etapas de procesamiento.

Los valores absolutos de los parámetros obtenidos se pueden extraer utilizando modelos matemáticos apropiados. Estos parámetros reflejan la farmacocinética de dos compartimientos exhibidas por los agentes de contraste, que se distribuyen entre los espacios intravascular y extravascular.

El modelo compartimental de Tofts es actualmente el más utilizado y recomendado.(17, 18) A pesar de que no proporciona resultados que corresponden exactamente a una realidad fisiológica, los resultados son sólidos y hace posible que un centro, con idénticas condiciones de adquisición, sea capaz de obtener resultados reproducibles y similares. Este modelo consta de dos compartimientos el tisular y el vascular. (5) El bolo de

gadolinio inyectado proporciona una concentración de plasma sanguíneo variable en el tiempo, que se puede medir en cada sujeto, o bien se puede utilizar un promedio de la población general.

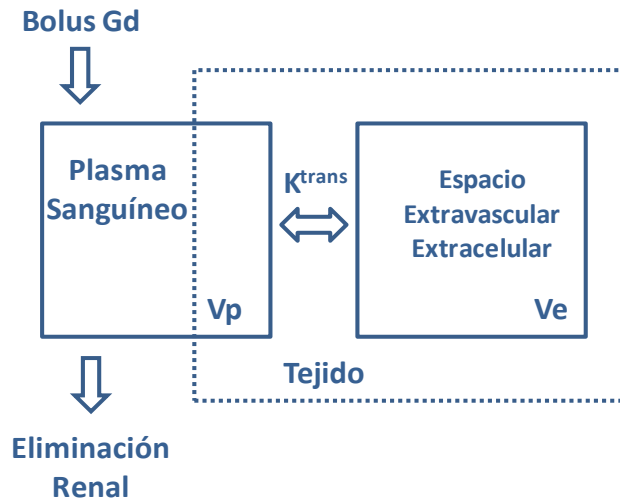


Figura 1.2 Esquema del modelo bicompartimental de Tofts

Como los contrastes usados comúnmente son de pequeño tamaño (≈ 1000 Daltons), el paso de los capilares al espacio extracelular extravascular (EEE) es por difusión y por lo tanto reversible; es por ello proporcional a la diferencia en las concentraciones, y K_{trans} es la constante de esa proporcionalidad.⁽¹⁹⁾ De este modelo se pueden obtener además la constante de velocidad o tasa de reflujo ($K_{ep} = K_{trans} / V_e$), el volumen fraccional EEE (V_e), y el volumen plasmático (V_p).

K_{trans} : Medida de la permeabilidad capilar (min^{-1})

V_e : Medida del volumen fraccional del EEE (%)

V_p : Medida del volumen plasmático del capilar

Cambios en estos parámetros hemodinámicos pueden preceder las alteraciones en RM convencional y, por tanto, el conocimiento del

comportamiento y los valores de perfusión de las diferentes lesiones permite reducir el diagnóstico diferencial y mejorar el manejo terapéutico. (9)

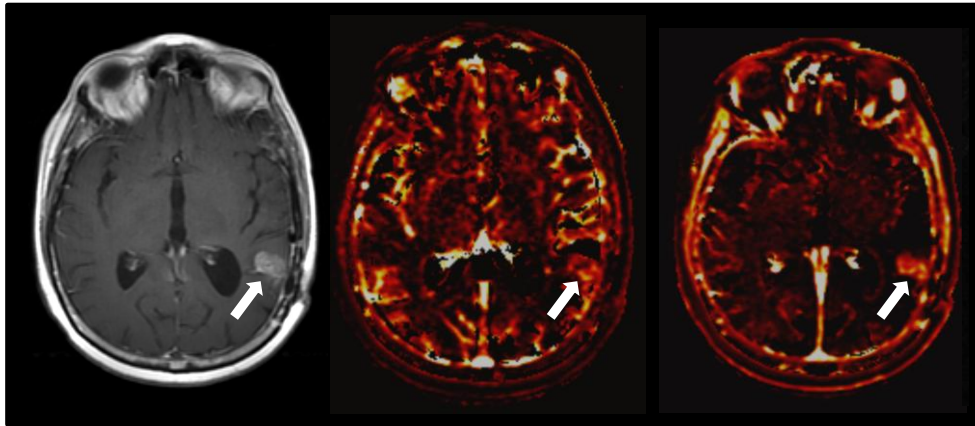


Figura 1.3 RM axial potenciada en T1 tras la administración de contraste paramagnético demostrando un glioblastoma temporal izquierdo (izquierda). Mapas paramétricos correspondientes demostrando aumento de los valores de volumen plasmático (centro) y permeabilidad capilar (derecha).

SITUACIÓN ACTUAL DE LA TECNICA

La RM perfusión DCE ha sido utilizada durante la ultima década para extraer información funcional sobre tejidos y órganos periféricos. Esta técnica ofrece la posibilidad de cuantificar múltiples parámetros relacionados con la perfusión tisular y el estado microvascular. Desde sus inicios, el enfoque se ha aplicado principalmente en los estudios de diferentes regiones de la anatomía (miocardio, mama, próstata...). Más recientemente, la RM DCE también ha sido adoptada para la valoración de parénquima cerebral y en menor medida para el estudio de la columna vertebral. En concreto, el estudio de la médula ósea de la columna vertebral mediante RM convencional se ha venido realizando clásicamente de manera rutinaria para

el diagnóstico inicial, la evaluación de la respuesta al tratamiento, y el seguimiento de los pacientes con tumores metastásicos. Estas evaluaciones son limitadas y se basan en la presencia de lesiones no específicas y los cambios en el tamaño del tumor, que proporcionan únicamente información morfológica y no proporcionan información fisiológica como la vascularización del tumor y la hemodinámica. Los efectos del tratamiento, el sexo y la edad en la médula complican aún más la evaluación convencional. Estos efectos comprenden cambios morfológicos y de intensidad de la señal debido a la conversión de la médula roja hematopoyética en médula ósea amarilla, con presencia de depósitos grasos presentando patrones variables de infiltración de tejido adiposo que pueden llevar a confusión. Además el tratamiento radioterápico también puede llegar a debilitar la estructura ósea, asociando un incremento en la frecuencia de fracturas vertebrales.

La RM de rutina de la columna vertebral puede ser marcadamente limitada para diferenciar entre tumores y procesos no tumorales, tumores hiper e hipovasculares, tumor viable de los no viables y fracturas patológicas de la no-patológicas, así como los cambios relacionados con el tratamiento(20). Las secuencias de perfusión DCE aportan información adicional desde un punto de vista cuantitativo acerca del comportamiento de la microvasculatura de los diferentes tejidos. En el caso de la columna vertebral permite abordar las cuestiones mencionadas anteriormente añadiendo datos objetivos que ayuden a la caracterización de las diferentes lesiones.

Asimismo es conocida la utilidad de las técnicas de perfusión basadas en secuencias potenciadas en T2 para la evaluación de neoplasias del SNC. Las estimaciones de parámetros de perfusión obtenidos utilizando DSC han demostrado correlación con el grado del tumor, clasificación de los mismos en función de la expresión de genes que permitan unas terapias personalizadas, valorar el pronóstico y la respuesta al tratamiento. (21)

Barajas et al, por ejemplo, analizaron retrospectivamente parámetros de perfusión DSC para determinar si el realce de una lesión era causado por recidiva de GBM o necrosis inducida por radioterapia. Demostraron que el rCBV era significativamente mayor y el porcentaje relativo de la recuperación de señal (RPSR) era significativamente menor dentro de las regiones con captación de contraste de recidivas de GBM cuando se compararon con los parámetros en pacientes con necrosis por radiación. La necrosis por radiación suele ser indistinguible de GBM recidivante en la RM con contraste convencional. Ambas entidades a menudo se manifiestan como una lesión con efecto de masa con diferentes grados de edema circundante y presencia de realce. Sin embargo, en el examen histopatológico, se demuestra que la necrosis por radiación y el GBM recidivante son marcadamente diferentes. La necrosis por radiación se caracteriza por una extensa necrosis fibrinoide, dilatación vascular, y lesión endotelial de la vasculatura cerebral circundante normal. La recidiva de GBM, a su vez, se caracteriza por la proliferación vascular manifestada por elevada densidad de la vasculatura tumoral. La capacidad de los valores de perfusión DSC que se utiliza para

distinguir entre estas diversas entidades del aumento del contraste se debe a diferencias inherentes a sus características hemodinámicas. Sus resultados demostraban que la vasculatura del tumor era notablemente mas elevada en muestras de tejido obtenido de regiones de realce en recidivas de GBM. La marcada diferencia en la expresión de la vasculatura del tumor entre el GBM recurrente y la necrosis por radiación es probablemente responsable de las diferencias en las mediciones hemodinámicas observadas. (22)

Jain et al demostraron que los parámetros de perfusión DSC pueden ser marcadores indirectos de la atenuación vascular y la angiogénesis tumoral en los gliomas. En su estudio, en lugar de centrarse en las características de imagen morfológica, eligieron correlacionar los parámetros de perfusión (CBV y permeabilidad) obtenidos de la región sólida de realce del tumor directamente con los genes relacionados con la regulación de la angiogénesis. Observaron que las estimaciones CBV y permeabilidad en GBMs se correlacionan positivamente con genes proangiogénicos e inversamente con genes antiangiogénicos, lo que puede ayudar a establecer una base molecular / genómica para estos biomarcadores de imagen de uso común y potencialmente expandir el conocimiento de sus bases inmunohistológicas. (23)

Sin embargo, las técnicas de perfusión DSC presentan algunos inconvenientes: La cuantificación absoluta de los parámetros es difícil de lograr por diferentes motivos: ausencia de relación lineal entre la concentración del medio de contraste y los cambios en la señal, presencia de

artefactos por susceptibilidad magnética debido a productos sanguíneos, grandes vasos y estructuras óseas así como la inadecuación de la técnica para evaluar la permeabilidad del contraste a través de la BHE. (24)

Las técnicas de perfusión de modalidad RM DCE no son muy utilizadas aún en el SNC. Presentan una serie de ventajas como permitir al usuario un análisis cuantitativo de la permeabilidad de la microvasculatura y a través de la BHE mediante la aplicación de un modelo compartimental. (17)

La RM DCE es una técnica de imagen avanzada que proporciona información fisiológica y hemodinámica de la médula ósea y parénquima cerebral. El estudio mediante esta secuencia es ventajoso con respecto a la RM convencional, ya que permite el análisis cinético durante la acumulación y la distribución de medio de contraste en el área de interés. Proporciona información valiosa sobre los parámetros vasculares de tejidos diferentes que no pueden ser obtenidos a partir de RM de rutina. Dicha información puede ser muy útil ya que es bien sabido que la radiación (un tratamiento común para la metástasis de columna vertebral y tumores en parénquima cerebral) o determinadas terapias antiangiogénicas (en caso de tumores cerebrales) afectan a los vasos del tumor. Un biomarcador hemodinámico como RM perfusión DCE teóricamente es ideal para la evaluación de la respuesta tras el desarrollo reciente de los fármacos antiangiogénicos.

La evaluación de la vascularización tumoral puede ayudar en el diagnóstico, la evaluación de la respuesta al tratamiento y seguimiento de pacientes con afectación neoplásica vertebral y del SNC. La utilidad de esta

técnica está más establecida en otras partes del cuerpo pero su manejo en cerebro y columna vertebral se encuentra aún en plena fase de investigación y desarrollo.

Esta tesis pretende arrojar algo de luz en la comprensión de la utilización de la perfusión DCE-MRI estableciendo el papel de esta técnica en la diferenciación de las fracturas vertebrales benignas y patológicas, clasificación gliomas y distinguir subpoblaciones moleculares del glioblastoma. La perfusión DCE-MRI representa una potencial herramienta de diagnóstico que puede utilizarse indistintamente en el parénquima cerebral y la médula ósea para abordar todos los retos antes mencionados de una manera integrada, no sólo ayudando en el proceso de diagnóstico y manejo de los pacientes, sino también desentrañando la fisiología y la hemodinámica de procesos neoplásicos, tanto en el CNS como en la columna vertebral.

APLICACIONES

Diferenciación de fracturas vertebrales benignas frente a malignas utilizando RM perfusión potenciada en T1

Las fracturas vertebrales por compresión en la columna torácica o lumbar son un problema común en la práctica clínica diaria, sobre todo en pacientes de edad avanzada. La osteoporosis es la causa más común de fracturas de compresión en este grupo de edad. (25)

Sin embargo, la columna vertebral es también un lugar frecuente de metástasis y enfermedad neoplásica primaria que puede resultar en fracturas patológicas. Por lo tanto diferenciar fracturas patológicas de las fracturas debidas a la osteoporosis puede ser un reto, especialmente entre los pacientes con cáncer que son propensos a desarrollar ambos tipos. Las fracturas vertebrales son un problema muy común en esta cohorte de pacientes que pueden estar sujetos a un uso a largo plazo de los esteroides, quimioterapia, radioterapia y con frecuencia presentan mala nutrición, además de la edad avanzada, factores todos ellos que afectan a la densidad ósea. (26)

La mayoría de los tumores metastásicos, así como las neoplasias primarias tales como el mieloma múltiple se caracterizan por la presencia de lesiones osteolíticas se presentan con menor densidad ósea y debilidad ósea estructural. Además de ciertos regímenes de tratamiento, por ejemplo, el bloqueo de las hormonas sexuales como el estrógeno en el cáncer de mama, también puede afectar a la homeostasis mineral ósea. (26) Todas estas circunstancias ponen a estos pacientes en mayor riesgo de fracturas vertebrales.

La RM es un método para la detección y evaluación de las patologías de la médula ósea hasta el punto de convertirse en la modalidad de imagen de elección para la evaluación de la enfermedad metastásica ósea. (20, 27-29) Por lo general, para la evaluación clínica estándar, se realiza un análisis cualitativo basado en secuencias convencionales.(30) Características morfológicas como la convexidad borde posterior del cuerpo vertebral,

intensidad de la señal anormal del pedículo o articulaciones posteriores, masa epidural, masa paraespinal focal, y presencia de otras metástasis espinales sugieren fracturas vertebrales malignas. Por el contrario, las fracturas osteoporóticas presentan bandas de baja intensidad de señal en T1 y T2, áreas de respeto de la médula ósea del cuerpo vertebral con intensidad de la señal normal, retropulsión de un fragmento de hueso posterior y la presencia de múltiples fracturas por compresión. (25) Las fracturas por compresión benignas crónicas pueden ser fácilmente detectados debido a la normalidad de la intensidad de señal en una vértebra comprimida. Sin embargo es difícil distinguir entre las fracturas por compresión benignas agudas y patológicas en la RM convencional ya que los cambios de intensidad de señal son a menudo similares. (31) El aumento de señal en la médula ósea en las imágenes potenciadas en T2 en la enfermedad neoplásica se debe principalmente al agua intracelular mientras que en las fracturas agudas refleja el agua intersticial (edema), lo que complica la caracterización de fracturas utilizando sólo la RM convencional. (32) Las características morfológicas pueden ser útiles, pero también pueden ser engañosas. Por ejemplo, las fracturas patológicas debido a mieloma múltiple son notorias por imitar las fracturas osteoporóticas. (33)

La RM perfusión potenciada en T1 permite obtener información funcional sobre la vascularización y la hemodinámica del tumor. Se puede lograr una evaluación cuantitativa de las características vasculares aplicando un modelo farmacocinético de captación de contraste a los cambios de intensidad de

señal calculada en función del tiempo. Teniendo en cuenta un modelo cinético de 2 compartimentos, el agente de contraste se supone que se distribuye en el volumen de plasma sanguíneo, con paso al intersticio en función del tiempo. (17) Esto puede proporcionar la estimación cuantitativa de los parámetros de perfusión, tales como el volumen plasmático (V_p) que representa la vascularización del tumor o K_{trans} que representan la constante de permeabilidad del vaso. (17, 34) Numerosos estudios han evaluado la DCE-MRI en la caracterización de tumores musculoesqueléticos y en la diferenciación de masas benignas de las malignas. Algunos estudios han demostrado que los parámetros de perfusión pueden ayudar en la diferenciación entre la médula ósea normal y la infiltración maligna. Estos estudios mostraron diferencias significativas entre la señal de curvas de tiempo-intensidad obtenidas a partir de controles normales y los obtenidos a partir de pacientes con la enfermedad maligna de la médula ósea. Los valores más altos de wash-in y wash-out y el tiempo al pico en la médula ósea maligna en comparación con los de la médula ósea normal en su estudio reflejaron un paso más rápido del material de contraste, que se puede explicar por la presencia y el incremento en el número de vasos anormales con mayor permeabilidad. (35-39) El objetivo de este estudio fue evaluar, mediante un modelo de análisis farmacocinético de bicompartimental, el valor diagnóstico de los parámetros de perfusión DCE como un método no invasivo para distinguir entre fracturas vertebrales patológicas y benignas.

RM perfusión y RM difusión en la clasificación de gliomas

Los gliomas representan casi el 30% de todos los tumores cerebrales y del sistema nervioso central y el 80% de todos los tumores cerebrales malignos.

(40) Los gliomas difusos muestran un continuo espectro histológico con diferentes grados de mitosis, necrosis, celularidad, y proliferación microvascular.

La OMS los ha clasificado como tumores de de bajo grado (grado II) o alto grado (grados III y IV), en función de sus características histopatológicas. Los gliomas de bajo grado son tumores malignos, bien diferenciados. Están asociados con un mejor pronóstico que los gliomas de alto grado(41). La clasificación precisa de glioma es crucial para la planificación del tratamiento y para determinar el resultado clínico.

Los gliomas de bajo grado suelen estar sujetos a estricto seguimiento o cirugía. (42) El tratamiento de los gliomas de alto grado es generalmente la cirugía, seguida de radioterapia y quimioterapia adyuvante. (42) La clasificación inexacta representa un riesgo para el paciente, ya que podría conducir a una terapia inadecuada. (42)

El diagnóstico histopatológico convencional tiene importantes limitaciones: Es un procedimiento invasivo que tiene un inherente margen de error, especialmente para los tumores de difícil acceso susceptibles sólo a la biopsia estereotáctica y la incapacidad para evaluar el tejido del tumor residual después de la cirugía. (43)

La RM es un método de imagen no invasivo útil para la caracterización tisular y clasificación de gliomas. La RM convencional ofrece información sobre el efecto de masa, edema, realce y necrosis que puede ser utilizado para estimar el grado del tumor. Sin embargo, tiene limitaciones para la clasificación de los gliomas. (44) De hecho, estudios previos han sugerido que la captación de contraste por sí sola es insuficiente para la clasificación del tumor, ya que algunos gliomas de bajo grado pueden exhibir realce mientras que algunos tumores de grado alto no. (45-47) El Realce puede reflejar simplemente la interrupción de la BHE y el aumento de permeabilidad del vaso, en lugar de aumento de vascularización y de la angiogénesis que son las características de los gliomas de alto grado.

Las técnicas avanzadas como la perfusión y la difusión pueden proporcionar información fisiológica adicional no disponible con la RM estándar. (44, 48) La determinación de los parámetros de perfusión y difusión se realiza actualmente en los ámbitos clínicos y de investigación que utilizan un software que se basa en el análisis de ROI. Sin embargo, el análisis basado en ROI tiene una limitación importante, ya que se evalúan sólo valores promediados. Además, puede dar lugar a imprecisiones debido a la heterogeneidad del tumor y la variabilidad entre observadores en la selección de regiones de interés. (49) Usando todo el tumor como un volumen de interés (VOI), se evaluó la precisión diagnóstica del análisis de histograma de ADC y parámetros de perfusión DCE V_p y la constante de permeabilidad (K_{trans}) en la evaluación preoperatoria de los gliomas. El propósito del

estudio fue evaluar la sensibilidad y especificidad de Vp, Ktrans y ADC para distinguir de forma no invasiva tumores de alto y bajo grado.

RM perfusión potenciada en T1 como marcador no invasivo del estado de EGFRvIII

El glioblastoma es el tumor cerebral primario más común y agresivo. Un tumor altamente maligno, se asocia con una supervivencia media de sólo 14 meses con radio-quimioterapia estándar.(50)

El glioblastoma se caracteriza por la heterogeneidad histológica con áreas de proliferación celular activa y mitosis mezcladas con áreas de necrosis. La secuenciación genética a gran escala ha revelado mutaciones "conductor" en varias vías comunes que contribuyen al crecimiento del glioblastoma. (23) Entre ellas, la sobre-activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) de la vía del receptor de membrana tirosin-quinasa contribuye a la rápida proliferación celular aberrante y acciona el crecimiento y desarrollo del tumor. (21, 51, 52) La variante EGFR III (EGFRvIII) es la mutación más común EGFR en glioblastoma, que ocurre en el 25-35% de los casos. (53) EGFRvIII se caracteriza por delección de los exones 2-7 en el dominio extracelular, haciendo que el receptor esté continuamente activo. El estado EGFRvIII se determina ya sea mediante la secuenciación del exón o fluorescencia de hibridación in situ (FISH) en muestras tumorales.

El creciente interés en la terapia específica de EGFRvIII y otros tratamientos de EGFR para glioblastoma exige una mejor comprensión de la correlación entre los cambios moleculares en los tumores y las características de neuroimagen. Estudios anteriores han demostrado una correlación de las secuencias de RM perfusión potenciada en T2 * (DSC) con amplificación de EGFR y mutaciones EGFRvIII. (21, 54) Sin embargo el papel de la perfusión RM potenciada en T1 (DCE) para distinguir subpoblaciones moleculares del glioblastoma no ha sido bien establecida. La RM perfusión potenciada en T1 ofrece varias ventajas técnicas sobre la DSC, incluyendo la mejora de caracterización de la vascularización del tumor a través de la cuantificación del volumen de plasma (VP) y una mejor caracterización de la permeabilidad del tumor a través del cálculo del coeficiente de transferencia de contraste Ktrans. (4, 24, 55) El propósito de este estudio fue examinar la relación entre los parámetros de perfusión DCE potenciados en T1 y el estado EGFRvIII en pacientes con glioblastoma recién diagnosticado. La hipótesis plantea que los pacientes con glioblastomas EGFRvIII positivos demostraría la perfusión y la permeabilidad al DCE-MRI aumento en comparación con los pacientes con glioblastomas-EGFRvIII negativo.

HIPÓTESIS

La técnica dinámica de perfusión con realce de contraste potenciada en T1 es capaz de diferenciar entre fractura benigna y patológica, benigna aguda y benigna crónica y benigna aguda y patológica.

La técnica dinámica de perfusión con realce de contraste potenciada en T1 es capaz de discriminar gliomas en función del grado histológico. Asimismo es una técnica más robusta frente a clasificación por grados utilizando secuencias potenciadas en difusión.

Los pacientes con gliomas que presenten la variante III de la mutación del receptor factor de crecimiento epidérmico, (epidermal growth factor receptor EGFRvIII) presentarán parámetros de perfusión mas elevados.

OBJETIVOS

Nuestro objetivo es investigar la utilidad de la secuencia de perfusión mediante Resonancia Magnética Dinámica con Contraste (DCE) en la evaluación de tumores primarios y metastásicos del SNC y columna vertebral mediante el desarrollo y selección de biomarcadores de imagen que facilitarían el proceso de toma de decisiones y ayuda en el manejo terapéutico de los pacientes con lesiones neoplásicas en SNC y en la columna vertebral (primarias y metastásicas). También tenemos como objetivo evaluar el valor pronóstico de diferentes parámetros cinéticos y hemodinámicos de la técnica en estos pacientes.

- Objetivos específicos

1. En columna vertebral se busca hacer frente a importantes cuestiones clínicas tales como: la diferenciación de tumor viable frente a no viable y diferenciación de fractura patológica frente a fractura osteoporótica.
2. En SNC, lograr un biomarcador que ayude en la clasificación preoperatoria y no invasiva de gliomas
3. Valoración preoperatoria de glioblastomas para definir la presencia de mutaciones, en particular EGFRvIII que permitan realizar un tratamiento personalizado.

MATERIAL Y METODOS

RESULTADOS

Las secciones de Material y Métodos junto con los Resultados, lo componen los 3 artículos que forman parte de esta tesis.

Los estudios retrospectivos realizados que se detallan a continuación recibieron autorización por el Consejo de Revisión Institucional del Hospital Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, Nueva York.

Los pacientes fueron revisados cumpliendo la normativa estadounidense denominada Ley de Responsabilidad y Transferibilidad de Seguro Médico (Health Insurance Portability and Accountability Act, HIPPA) y con la aprobación del Consejo de Privacidad del hospital.

***DIFFERENTIATING BENIGN FROM MALIGNANT VERTEBRAL
FRACTURES USING T1-WEIGHTED DYNAMIC CONTRAST
ENHANCED MRI***

Julio Arevalo-Perez MD¹, Kyung K Peck PhD^{1,2}, John K Lyo MD¹, Andrei
Holodny MD¹, Eric Lis MD¹, Sasan Karimi MD¹

¹ Department of Radiology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New
York, New York

² Department of Medical Physics, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center,
New York, New York

Published in the Journal of Magnetic Resonance Imaging. Copyright © 2015
Wiley Periodicals, Inc.

Abstract

Purpose

Differentiating pathologic from benign vertebral fractures can be challenging. We hypothesized that DCE-MRI can aid in non-invasive distinction between pathologic and benign fractures.

Methods and Materials

Consecutive patients with vertebral fractures who underwent DCE-MRI, biopsy and kyphoplasty were reviewed. Forty-seven fractures were separated into pathologic and benign fractures. Benign fractures were in turn separated into acute and chronic fractures for further comparison. ROIs were placed

over fractured vertebral bodies. Perfusion parameters: V_p , K^{trans} , wash-in slope, peak enhancement and AUC were measured and compared between the 3 different groups of fractures. A Mann-Whitney U test was conducted to assess the difference between the groups.

Results

Pathologic fractures had significantly higher ($p < 0.01$) perfusion parameters (V_p , K^{trans} , wash-in slope, peak enhancement and AUC) compared with benign fractures. We also found significant differences ($p < 0.001$) in all parameters between chronic and acute fractures. V_p and K^{trans} were able to differentiate between pathologic and acute fractures ($p < 0.01$). No significant differences were found with peak enhancement ($p = 0.21$) and AUC ($p = 0.4$) between pathologic and acute fractures.

Conclusion

Our data demonstrates that T1-weighted DCE-MRI has potential to differentiate between pathologic vs benign, acute vs chronic and most importantly benign acute vs pathologic vertebral fractures.

Introduction

Vertebral compression fractures in the thoracic or lumbar spine are a problem commonly encountered in daily clinical practice, particularly in elderly patients. Osteoporosis is the most common cause of compression fractures in this age group (25). However the spine is also a frequent location of metastatic and primary neoplastic disease that may result in pathologic fractures. Therefore differentiation between malignant from benign fractures due to osteoporosis can be challenging, especially among cancer patients who are prone to developing both types. Vertebral fractures are a very common concern in this cohort of patients who may be subject to long term use of steroids, chemotherapy, radiotherapy and frequently present with poor nutrition in addition to advanced age, factors that affect bone density (26). Most metastatic tumors as well as primary neoplasms such as multiple myeloma are characterized by the presence of osteolytic lesions presenting with decreased bone density and osseous structural weakness. Besides certain treatment regimens, for instance blocking sex hormones such as estrogen in breast cancer, can also affect bone mineral homeostasis (26). All these circumstances put these patients at higher risk for vertebral fractures.

Magnetic resonance imaging (MRI) is a method for the detection and evaluation of bone-marrow pathologies to the point of becoming the imaging modality of choice for marrow metastatic disease (20, 27-29). Typically, for the standard clinical assessment, a qualitative analysis based on T1-weighted spin-echo (SE) as well as short-T1 inversion recovery (STIR) sequences is

performed (30). However it is frequently difficult to distinguish between acute benign and pathologic compression fractures on conventional MR imaging since signal intensity changes are often similar (31). Morphological features can be helpful, but can be misleading. For instance, pathological fractures due to multiple myeloma are notorious for mimicking osteoporotic fractures (33), Marrow hyper signal on T2-weighted images in neoplastic disorders is mainly due to intracellular water whereas in acute fractures it reflects interstitial water (edema) thus complicating the characterization of fractures by using only conventional MR imaging (32).

Recently, new contrast mechanisms allow a quantitative analysis of various aspects of bone physiology (30). Particularly, dynamic contrast-enhanced (DCE) MRI perfusion imaging permits to obtain functional information on tumor vascularity and hemodynamics.. A quantitative assessment of vascular features can be achieved by applying a pharmacokinetic model of contrast uptake to the calculated signal intensity changes over time. Considering a 2-compartment kinetic model, the contrast agent is presumed to be distributed in the blood plasma volume, leaking in a time-dependent manner into the interstitium (17). This can provide quantitative estimation of perfusion parameters such as plasma volume (V_p) that represents the tumor vascularity or K^{trans} that represent the permeability constant of the vessel (17) (34). A number of studies have evaluated DCE-MRI in the characterization of musculoskeletal tumors and in the differentiation of benign from malignant masses. Some studies have shown

that perfusion parameters can aid in the differentiation between normal bone marrow and malignant infiltration (35-39).

The objective of this study was to assess, using a 2-compartment pharmacokinetic model analysis, the diagnostic value of DCE-MRI perfusion parameters as a non-invasive method to distinguish between pathologic and benign vertebral fractures.

Material and Methods

Study Design

This retrospective study was granted a Waiver of Authorization by the Institutional Review Board. In compliance with the Health Insurance Portability and Accountability Act (HIPPA) regulations and with approval of the hospital Privacy Board, we retrospectively reviewed patients with vertebral fractures from a data base of kyphoplasty procedures in our institution. The database was queried to select all patients with vertebral fractures who had undergone both biopsy and DCE-MRI perfusion studies between January 2012 and March 2014.

Patient Selection

Consecutive patients with vertebral fractures who underwent DCE-MRI, biopsy and kyphoplasty were reviewed. Forty-seven fractures were divided into pathologic and benign fractures. Patients without pre-procedure DCE

perfusion scan between the above mentioned dates were excluded. Studies with imaging artifact (osteosynthesis material, motion artifact, decreased signal-to-noise ratio) affecting the area of interest were also excluded. Histopathology reports were reviewed to determine the biopsy results of every fracture. The eligible remaining 21 patients (9 female, 12 male; 46-84 years old, mean age = 65 years old) presenting 47 fractures were included in the study. Acute and chronic fractures were present simultaneously in 2 patients. All fractures were divided in 2 groups depending on whether the results of the biopsy were pathologic (metastatic or primary tumor) or non-pathologic (without evidence of malignant cells). (**Table 2.1**)

Table 1:		Demographics			
		Total	Non-pathologic		Pathologic
			Chronic	Acute	
Patients (n)		21	4 *	7*	12
Fractures (n, %)		47	13 (27.66%)	15 (31.91%)	19 (40.43%)
Gender (n)	Female	9	3	3	4
	Male	12	1	4	8

* Acute and chronic fractures were present simultaneously in 2 patients.

Benign fractures were in turn divided into 2 subgroups, acute and chronic fractures, according to the presence of marrow edema on STIR sequences. We defined fractures from an imaging stand point and considered a fracture acute as long as there was marrow edema, and chronic when there was no longer marrow edema. We did not define it in terms of days since sometimes

the fractures were clinically occult. (**Table 2.2**) The first group consisted of 4 patients (3 female, 1 male: 55-70 years old, mean age = 62.5 years old) with 13 chronic osteoporotic fractures.

The second group consisted of 7 patients (3 female, 4 male: 55–84 years old, mean age = 69.5 years old) with acute osteoporotic vertebral fractures. All individuals from the benign group had been diagnosed with concomitant neoplastic processes although all biopsy results from the fractured vertebral bodies taken during the kyphoplasty procedure were negative for malignant cells. Patients in the chronic fracture group were diagnosed with ovarian adenocarcinoma (n=1), glioblastoma (n=1), multiple myeloma (n=1) and sarcoma (n=1). Patients in the acute fracture group included glioblastoma (n=4), multiple myeloma (n=1), esophageal adenocarcinoma (n=1), gallbladder adenocarcinoma (n=1).

The third group comprised 12 patients (4 female, 8 male: 46-77 years old, mean 61.5 years) with 19 pathologic fractures. The biopsy results were consistent with metastasis of a known primary neoplasm; lung adenocarcinoma (n=3), colon adenocarcinoma (n=3), gastric adenocarcinoma (n=2), renal cell carcinoma (n=1), prostate adenocarcinoma (n=1), breast adenocarcinoma (n=1) and melanoma (n=1).

Table 2: Demographics for Patients with Vertebral Fractures				
Patient	Age	Gender	Level of Fracture	Biopsy/Concomitant Malignancy
Pathologic Fractures				
1	76	m	L1	Lung adenocarcinoma
2	56	m	L4	Colon adenocarcinoma
3	78	m	L5	Colon adenocarcinoma
4	58	m	T4	Gastric adenocarcinoma
5	56	m	L1	Melanoma
6	66	m	T12	Renal cell carcinoma
7	46	m	T12	Gastric adenocarcinoma
8	51	f	L2	Colon adenocarcinoma
9	63	f	T11, T12	Lung adenocarcinoma
10	52	f	L2, L3, L5	Lung adenocarcinoma
11	77	m	T8, L2, L3	Prostate adenocarcinoma
12	56	f	T12, L1, L2	Breast adenocarcinoma
Chronic Fractures				
1	70	f	L1, L2, L3, L4, L5	Ovarian Adenocarcinoma
2	55	m	T11, L1, L3, L4	Multiple Myeloma
3	67	f	T12, L1	Sarcoma
4	64	f	L1, L4	Glioblastoma
Acute Fractures				
1	68	f	T10,T11, T12	Gallbladder Adenocarcinoma
2	71	m	L2, L2, T12	Glioblastoma
3	84	f	T10,T12	Esophageal Adenoca
4	55	m	T12	Multiple Myeloma
5	62	m	T9,T11, T12, L1	Glioblastoma
6	62	m	T12	Glioblastoma
7	64	f	T9	Glioblastoma

MRI Data Acquisition

MRI sequences of the spine were acquired with a 1.5-T GE scanner (Milwaukee, Wisconsin) using an 8-channel cervical-thoracic-lumbar (CTL) surface coil. All patients underwent routine MRI, including sagittal T1 (field-of-view[FOV], 32-36 cm; slice thickness, 3 mm; repetition time[TR], 400-650ms; flip angle[FA], 90°) and T2 (FOV, 32-36 cm; slice thickness, 3 mm; TR, 3500-4000ms; FA, 90°) and sagittal short inversion time inversion

recovery[STIR] (FOV, 32-36 cm; slice thickness, 3 mm; TR, 3500-6000ms; FA, 90°).

DCE-MRI of the spine was then acquired. A bolus of gadolinium-diethylenetriamine penta-acetic acid (Gd-DTPA) was administered by a power injector at 0.1 mmol/kg body weight and a rate of 2 to 3 mL/sec. The kinetic enhancement of tissue during and after injection of Gd-DTPA was obtained using a 3D T1-weighted fast spoiled-gradient (SPGR) echo sequence (TR, 4-5 seconds; echo time [TE], 1-2 seconds; slice thickness, 5 mm; FA, 25°; FOV, 32cm; temporal resolution (Δt) of 6.5 seconds and consisted of 10 -12 images in the sagittal plane. The 3D SPGR sequences generated phase images in addition to the standard magnitude images. The duration of the DCE sequence was 300 seconds. Sagittal and axial T1-weighted post-Gd-DTPA MR images were acquired after DCE-MRI.

Data Analysis

Data processing and analysis was performed using dynamic image processing software (NordicIce-NeuroLab, Bergen, Norway) and Matlab (Mathworks, Natick, MA). Pre-processing steps included background noise removal, spatial and temporal smoothing, and detection of the arterial input function (AIF) from the aorta. AIF was individually calculated in each acquisition of every patient. Appropriate shape of the AIF curve was visually confirmed before processing steps continued. The Tofts 2-compartment pharmacokinetic model analysis was applied for calculation of voxel-by-

voxel estimates of quantitative and semiquantitative perfusion parameters, including time-dependent leakage (K^{trans}), blood plasma volume (V_p) wash-in slope, peak enhancement and area under the curve (AUC) maps (17). All regions of interests (ROIs) were placed in the areas with high plasma flow in the fractured vertebral body on the perfusion maps by 2 radiologists (JAP and SK) with 7 and 16 years of experience respectively, who were blinded to the results of the biopsies and other clinical data including age and gender, with careful consideration to avoid lesion margins, normal-appearing marrow, endplates, spondylotic changes, and vessels (including the basivertebral venous plexus). Anatomical T1-weighted pre-contrast and STIR sequences that matched the DCE-MRI maps were used for optimal ROI placements. For the purpose of normalizing parameters to a ratio of fracture value / normal marrow value, ROIs were also placed in normal marrow of adjacent healthy-looking vertebral bodies avoiding vertebrae with post-radiation or abnormal signal changes.

Morphologic analysis

Two different experienced neuroradiologists (JL and AH) who were not aware of the quantitative DCE data results, described the morphological characteristics of the different groups on T1-weighted pre-contrast and STIR sequences. These included the T1 and STIR signal intensity of each fracture, the number of fractures for each patient. Parametric perfusion maps were also visually evaluated for each comparison. Time intensity curves (TIC) were used to compare the pattern of the contrast-uptake in the lesions.

Statistical analysis

A Mann-Whitney U test at a significance level of corrected $p < 0.01$ was conducted to assess the difference of the DCE-MRI perfusion parameters between pathologic and benign vertebral fractures. The same test was applied to compare acute and chronic benign fractures, and pathologic and acute fractures. The significance was achieved after a Bonferroni adjustment. In addition, the receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was applied to assess the sensitivity and specificity of perfusion parameters between the two pathologies. In the ROC curve analysis, cutoff values determined by maximizing the sum of the sensitivity and specificity, were determined for each comparison.

Results

Patients

Patient demographics and fractures classification information for benign (acute and chronic) and pathologic fractures groups is displayed in **Tables 1** and **2**. There were differences in groups based on age with a mean age of 66 years for the benign group and a mean age for the pathologic group 61.5 years. Most fractures were located in lower thoracic and upper lumbar levels (T11-L3) in both cohorts. Gender distribution was slightly uneven with most of the pathologic fractures being male (8 of 12) and the benign group having a female predominance (6 of 11).

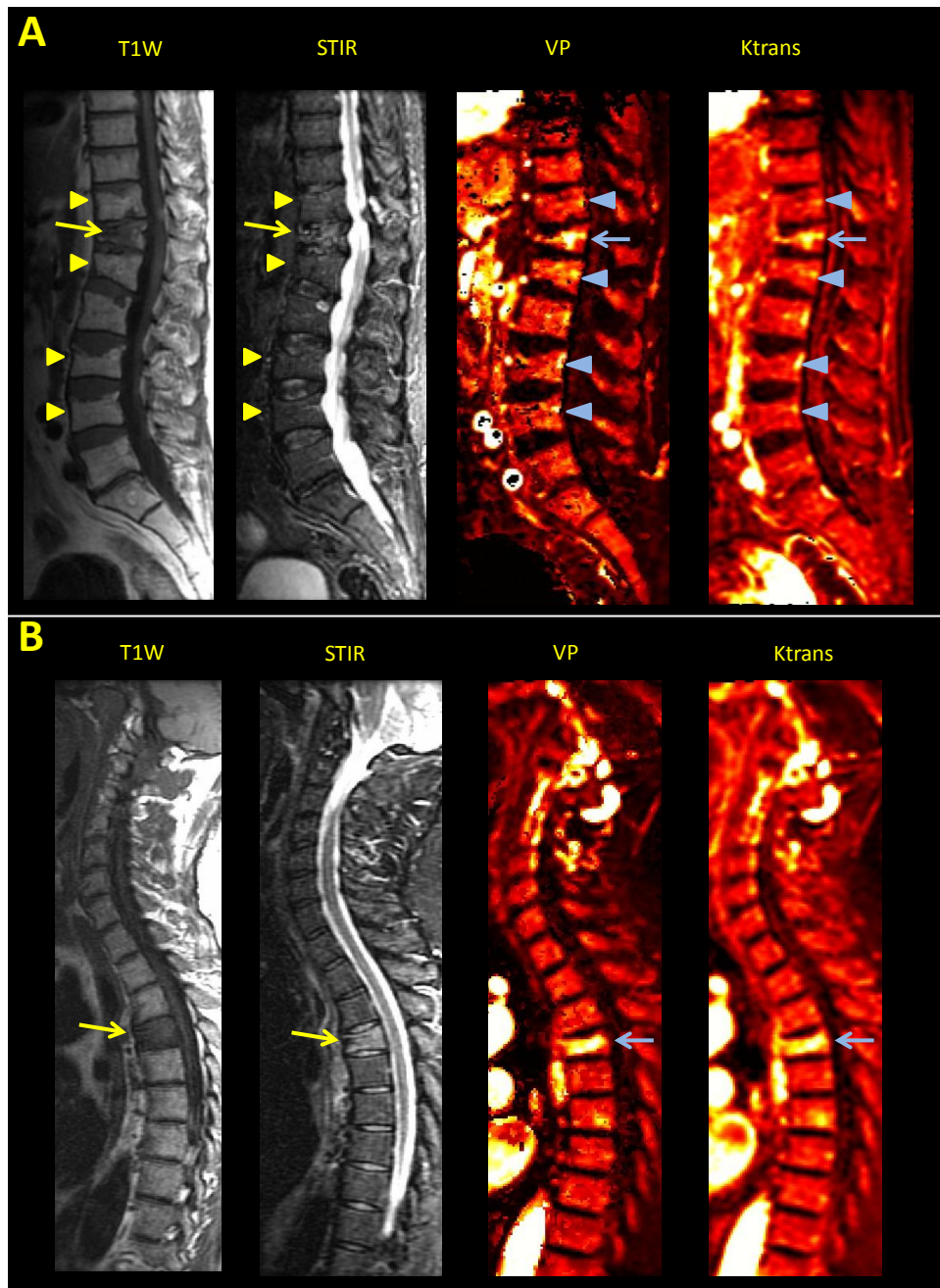


Figure 2.1: (A) Sagittal T1-weighted, STIR MR images matching with corresponding V_p and K^{trans} maps depicting simultaneously chronic benign vertebral fractures (arrowheads) and acute benign vertebral fracture (arrow). Signal intensity changes and increased V_p and K^{trans} values are noted in the acute vertebral fracture in conventional sequences and parametric maps respectively. (B) Sagittal T1-weighted, STIR MR images paired with corresponding V_p and K^{trans} maps depicting pathologic vertebral fractures (arrows). Signal intensity changes and increased V_p and K^{trans} values are noted in the conventional sequences and parametric maps respectively.

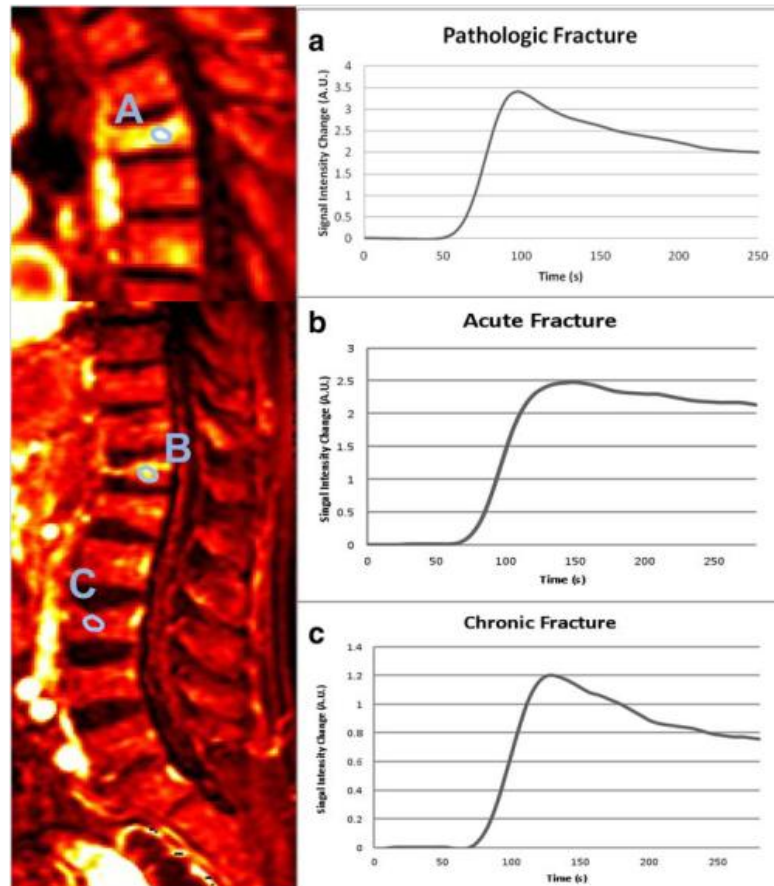


Figure 2.2. Sagittal perfusion maps (K^{trans}) from a patient with a pathologic fracture (A) and another patient presenting acute (B) and chronic benign (C) fractures simultaneously paired with corresponding time-intensity curves.

Conventional MR and Perfusion Maps

Most osteoporotic fractures presented a low-signal-region on T1-weighted images with areas of spared normal bone. Only the benign group presented with multiple vertebral body fractures. All acute fractures demonstrated varying levels of increased signal on the STIR sequence (**Figure 1**). For the subjective analysis, all 5 parametric perfusion maps demonstrated high signal intensity for all perfusion parameters in the fractured vertebral body, whereas the chronic fractures demonstrated low signal intensity. Pathologic fractures

usually exhibited both low signal on T1-weighted sequences and high signal in STIR sequences. Some cases showed abnormal intensity in different parts of the vertebrae, for example the pedicle or the paravertebral soft-tissues. All perfusion maps in the malignant fracture group depicted increased intensity perfusion values in the fractured vertebral body and sometimes also in other parts of the vertebrae (**Figure 2.1**). Time Intensity Curves for pathologic fractures showed higher signal intensities for the higher slope threshold curves (**Figure 2.2**).

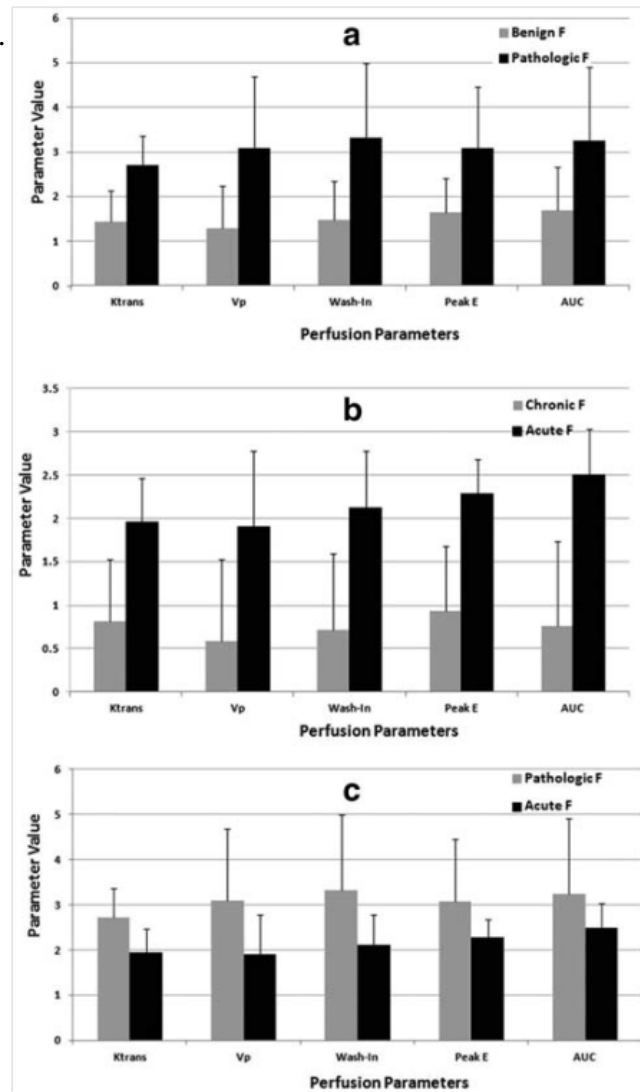


Figure 2.3 A bar graph illustrating the mean values and standard deviations for the DCE-MRI perfusion parameters K^{trans}, V_p, wash-in, and peak-enhancement in pathologic vs benign fractures (A), benign acute vs chronic (B) and acute vs pathologic (C).

Quantitative Perfusion Analysis

The mean and standard deviations of the perfusion parameters from the three groups are shown in **Figure 2.3**. Pathologic fractures had significantly higher perfusion parameters (V_p , K^{trans} , wash-in slope, peak enhancement and AUC) ($p<0.01$ for each parameter) when compared with benign fractures. We also found significant differences ($p<0.001$) in all parameters (V_p , K^{trans} , wash-in slope, peak enhancement and AUC), between chronic benign and acute benign fractures. V_p and K^{trans} were also able to discriminate between pathologic and acute benign fractures ($p<0.01$). Wash in was also significant ($p=0.02$). No significant differences were found with peak enhancement ($p=0.21$) and AUC ($p=0.4$) in this last group.

The ROC curve, which depicts the sensitivity and specificity of perfusion parameters for different comparisons, is displayed in **Figure 2.4**. In the first comparison we carried out (pathologic vs benign fractures), K^{trans} showed the highest area under the curve (AUC; 0.902). V_p recorded the second highest AUC (0.876) and was followed by wash-in slope (AUC, 0.857) peak enhancement (AUC, 0.801) and AUC (AUC, 0.773). The second comparison (benign acute vs chronic fractures) both peak enhancement and AUC demonstrated the highest AUC=1, followed by K^{trans} (AUC, 0.99), wash-in slope (AUC, 0.969) and V_p (AUC, 0.928). Finally, the third comparison (pathologic vs acute benign), established K^{trans} as the highest area under the curve (AUC, 0.818). It was followed by V_p (AUC, 0.768), wash-in slope

(AUC, 0.733) peak enhancement (AUC, 0.628) and AUC (AUC, 0.575). The cut-off values for all perfusion parameters are presented in **Table 2.3**.

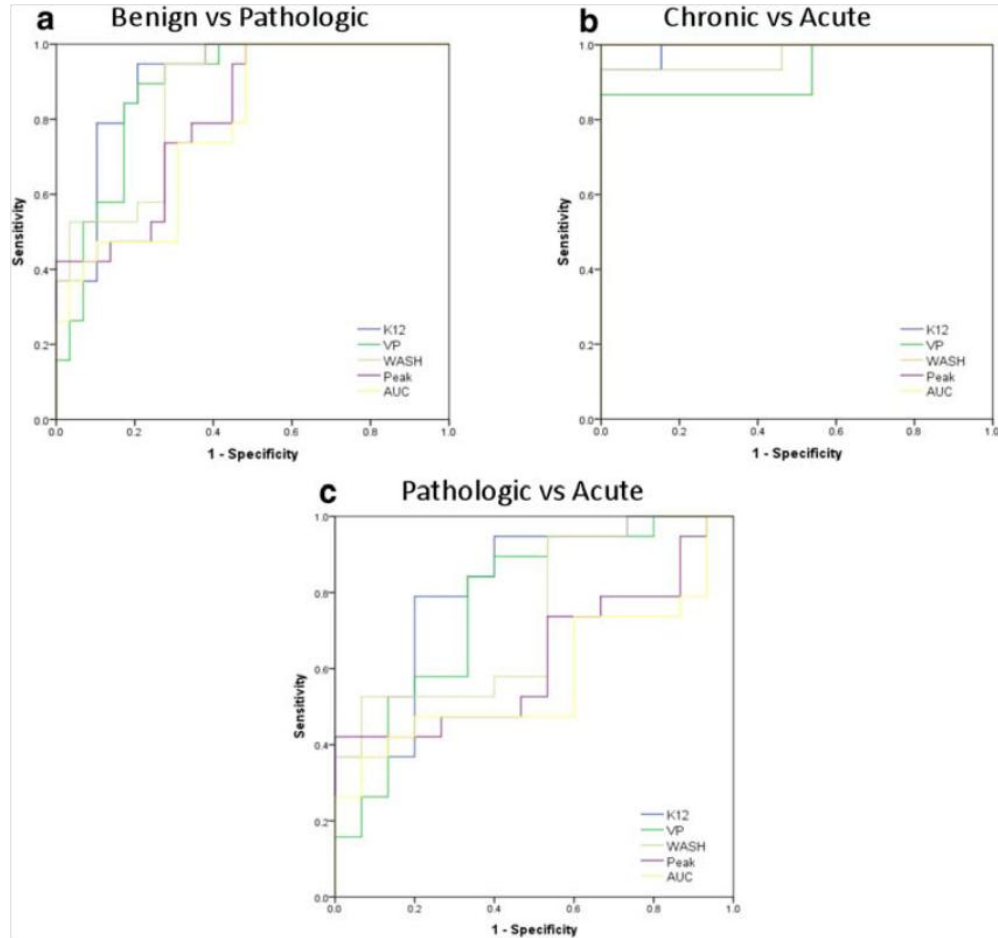


Figure 2.4: Receiver operating characteristic curves depicting the true positive rate (specificity) and the false positive rate (sensitivity) of DCE-MRI perfusion parameters in classifying benign vs pathologic fractures (A), chronic vs acute fractures (B) and pathologic vs acute(C).

Table 3: Cut-off Values			
	Pathologic vs Benign	Acute vs Chronic	Acute vs Pathologic
K^{trans}	1.998 (90%, 79%)	1.27 (93%, 100%)	2.19 (79%, 73%)
V_p	1.91 (89.5%, 79%)	1.25 (87%, 100%)	2.01 (84%, 68%)
Wash-in	1.95 (90%, 71%)	1.198 (93%, 100%)	2.54 (58%, 60%)
Peak	2.09 (79%, 64%)	1.29 (100%, 100%)	2.59 (50%, 73%)
AUC	2 (79%, 54%)	1.29 (100%, 100%)	2.76 (50%, 80%)

*Cut-off value (Sensitivity, Specificity)

Discussion

The goal of this study was to evaluate different perfusion parameters and assess for differences between benign and malignant vertebral fractures. We performed a quantitative and semiquantitative analysis based on a two-compartment exchange model providing estimates of perfusion and permeability. Our results yielded significant differences between pathologic and osteoporotic fractures, between acute and chronic fractures, and also between acute and pathologic vertebral fractures. Of the five perfusion parameters studied, K^{trans} stands out as the best discriminator between benign osteoporotic versus pathologic vertebral fractures.

All perfusion parameters were notably lower in the chronic fractures compared to acute fractures. This is probably due to the sclerotic/fibrotic changes and altered trabecular architecture in the chronically fractured vertebral body, which led to decreased vascularization (V_p) and decreased leakage (K^{trans}). A prior study demonstrated that the age of a fracture notably influences the perfusion parameters (39). Our findings showed a good agreement with their work in that perfusion parameters demonstrated significant differences ($p \leq 0.001$) between acute and chronic vertebral fractures.

A number of stages can be distinguished in the fracture healing process: callus proliferation, vascularization, calcification, and reorganization. These stages represent an inflammatory phase, a reparative phase, and a remodeling phase (56). Increased vascularity is observed at the fracture site during the

acute inflammatory phase. Therefore, an acute fracture during the inflammatory phase and a pathological fracture can appear similar on DCE, as both will demonstrate increased perfusion characteristics. (32). Notwithstanding, our results showed that K^{trans} and V_p were able to differentiate between acute benign and pathologic fractures. The K^{trans} and V_p values were significantly greater in hot spots in malignant fractures than in benign fractures ($p < 0.01$). A possible explanation for this can be that although the acute inflammatory response to the fracture can show an increase in vascularity and permeability as a part of the healing process, a vertebral body with metastatic deposits will have additional alterations to the microvascular structure. Such, new fragile vessels in addition to the inflammatory healing changes of the fracture will lead to increased plasma volume as well as augmented vascular permeability.

Discrimination between benign from malignant fractures has been typically based on the evaluation of morphologic parameters such as size, demarcation of margins, involvement of adjacent structures, signal homogeneity, and measurements of relaxation times (32). Unfortunately, using morphological parameters remains problematic as there is a substantial overlap between osteoporotic and pathological fractures.

Advanced MRI techniques such as diffusion-weighted MR imaging have been used in recent years to distinguish pathologic and benign vertebral fractures. Since Baur et al reported that DW imaging provided excellent discrimination between pathologic and benign compression fractures,

subsequent studies have shown promising results (57). Sung et al concluded that adding qualitative and quantitative axial DW imaging to a standard MR imaging protocol improved the diagnostic accuracy in the differentiation between acute benign and malignant compression fractures of the spine at 3.0 T (58).

Several qualitative and quantitative techniques have been described to evaluate dynamic contrast-enhanced images in spine fractures. In previous studies using semiquantitative analysis of DCE-MRI perfusion parameters, investigators have reported contradictory results regarding the potential of perfusion parameters for the differentiation of benign osteoporotic vertebral fractures from malignant vertebral fractures (39). Chen et al. reported no significant differences in the peak contrast enhancement percentage, enhancement slope, and the time intensity curve (TIC) patterns between benign acute compression fracture, metastatic vertebral lesion, and pathologic compression fracture.(20). Tokuda et al. reported significantly higher peak enhancement, steepest slope, and slope values in pathologic compression fractures than osteoporotic compression fractures although time-intensity curve (TIC) patterns could not distinguish between the two entities (32). The results of these previous studies are contradictory regarding the potential of semiquantitative perfusion indexes to distinguish between benign vertebral fractures from malignant vertebral fractures. A great limitation of the former studies is the use of semiquantitative and descriptive parameters , while not taking into account the arterial input function (AIF) (39). In our study most

cases demonstrated variable curve patterns with the most common one depicting a rapidly rising slope (wash-in) during an initial short period followed by a short plateau and a slow wash-out phase. Unlike in the studies by Chen et al and Tokuda et al, no representative pattern of TIC for each group of fractures was found in our study. Instead, we used quantitative and semiquantitative parametric maps taking into account the arterial input function (AIF) that, in our view, represents a more reproducible and objective approach.

Geith et al demonstrated that the quantitative perfusion parameters of interstitial volume, ECV, and extraction flow were significantly greater in areas of high plasma flow in acute osteoporotic vertebral fractures compared to acute malignant vertebral fractures. They also observed that the mean values of K^{trans} , plasma flow, and V_p were higher in the areas of increased plasma flow in malignant fractures than in osteoporotic fractures although no significant differences were detected (39). Our analysis confirmed their findings that the mean values of DCE-MRI perfusion parameters demonstrated significant differences between benign and pathologic vertebral fractures. Further, we also demonstrated that quantitative DCE-MRI perfusion parameters K^{trans} and V_p , are superior to semiquantitative parameters in discriminating acute benign from pathologic vertebral fractures. The ability of our study to obtain significant results, not obtained by Geith et al, may be due to patient selection, as all of our patients were biopsy proven whereas, the diagnosis in the Geith et al study was

occasionally established by methods outside of histological analysis such as clinical follow up, PET-CT and follow up with MRI which may have lead to errors in diagnosis.

There are several possible limitations to our study including a small number of patients and the sampling of only selected regions of the fractures with the ROIs. We followed a standard method of analyzing perfusion data by selecting region-of-interest (ROI), which has been shown to be reproducible, though it remains a subjective operator-dependent technique, associating an inevitable factor of interobserver and intraobserver variability. In spite of the fact that we recruited consecutive patients that met the inclusion criteria, this is a retrospective study and there is a possibility of selection bias. No stratification according to primary malignancies was made within the malignant fracture group although there might be different perfusion patterns of the metastatic deposits responsible for the fractures, expecting high perfusion parameters in metastasis from hypervascular tumors and vice versa (59). This study has a wide range of patient age (46–84 years old) and some authors have reported that dynamic contrast enhancement of bone marrow can be strongly influenced by age and fat content (32). However, the patients in this study were all middle age or older adults hence minimizing age related variations. Even though the influence of fat content was not taken into account during perfusion analyses, it should be negligible because the fat fraction is known to be very small in fractures (39). Few of the patients in this study had benign osteoporotic fractures as most patients

with osteoporotic fractures could be diagnosed using conventional imaging and thus avoided biopsy. The patients with benign fractures who were included in this study had undergone biopsy as part of a kyphoplasty procedure. Also, we analyzed multiple compression fractures from a single patient as independent lesions with the assumption that underlying systemic patient related factors would not bias these results.

Our data demonstrates that quantitative evaluation of DCE-MRI can be used as a noninvasive analytical indicator to distinguish between pathologic and benign, acute and chronic and most importantly benign acute and pathologic vertebral fractures. The value of DCE-MRI in differentiating the nature of fractures has potential clinical implications. Adding DCE perfusion maps to standard MRI may improve diagnostic accuracy and may significantly impact patient care outcomes.

***DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED PERFUSION MRI AND
DIFFUSION WEIGHTED IMAGING IN GRADING OF GLIOMAS***

Julio Arevalo-Perez MD¹, Kyung K Peck PhD^{1,2}, Robert J. Young MD¹,
Andrei I Holodny MD¹, Sasan Karimi MD¹, John K Lyo MD¹

¹ Department of Radiology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New
York, New York

² Department of Medical Physics, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center,
New York, New York

Published in the Journal of Neuroimaging. Copyright © 2015 by the
American Society of Neuroimaging. © 2015 Wiley Periodicals, Inc.

Abstract

Purpose

Accurate glioma grading is crucial for treatment planning and predicting prognosis. We performed a quantitative volumetric analysis to assess the diagnostic accuracy of histogram analysis of diffusion-weighted imaging (DWI) and dynamic contrast-enhanced (DCE) T1-weighted perfusion imaging in the preoperative evaluation of gliomas.

Methods

Sixty-three consecutive patients with pathologically-confirmed gliomas who underwent baseline DWI and DCE-MRI were enrolled. The patients were

classified by histopathology according to tumor grade: 20 low-grade gliomas (grade II) and 43 high-grade gliomas (grades III and IV). Volumes-of-interest were calculated and transferred to DCE perfusion and ADC maps. Histogram analysis was performed to determine mean and maximum values for V_p and K_{trans} , and mean and minimum values for ADC. Comparisons between high-grade and low-grade gliomas, and between grades II, III and IV, were performed. A Mann-Whitney U test at a significance level of corrected $p \leq 0.01$ was used to assess differences.

Results

All perfusion parameters could differentiate between high-grade and low-grade gliomas ($p < 0.001$) and between grades II and IV, grades II and III and grades III and IV. Significant differences in minimum ADC were also found ($p < 0.01$). Mean ADC only differed significantly between high and low grades and grades II and IV ($p < 0.01$). There were no differences between grades II and III ($p = 0.1$) and grades III and IV ($p = 0.71$).

Conclusion

When derived from whole-tumor histogram analysis, DCE-MRI perfusion parameters performed better than ADC in non-invasively discriminating low- from high-grade gliomas.

Introduction

Gliomas account for nearly 30% of all brain and central nervous system tumors and 80% of all malignant brain tumors (40). Diffuse gliomas show a histologically continuous spectrum with varying grades of mitosis, necrosis, cellularity, and microvascular proliferation. The WHO has classified them as low-grade (grade II) or high-grade tumors (grades III and IV) based on their histopathologic characteristics. Low-grade gliomas are malignant, well-differentiated tumors. They are associated with a better prognosis than the high-grade gliomas (41). Accurate glioma grading is crucial for treatment planning and for determining the clinical outcome. Low-grade gliomas are usually subject to either strict follow-up or surgery (42). The treatment for high-grade gliomas is typically surgery, followed by concomitant radiation therapy and chemotherapy (42). Inaccurate grading represents a risk for the patient, since it could lead to an inappropriate therapy (42). Conventional histopathologic diagnosis has significant limitations: It is an invasive procedure that has inherent sampling error, especially for difficult-to-access tumors amenable only to stereotactic biopsy, and inability to evaluate residual tumor tissue after surgery (43).

MRI is a useful non-invasive imaging method for tissue characterization and glioma grading. Conventional MRI offers information on mass effect, edema, enhancement and necrosis that can be used to estimate tumor grade.

However it has limitations for the grading of gliomas (44). In fact, prior studies have suggested that contrast enhancement alone is inadequate for

tumor grading, since some low-grade gliomas may exhibit enhancement while some high-grade tumors may not (45-47). Enhancement may simply reflect disruption of the blood-brain barrier and increased vessel leakiness, rather than the neovascularity and angiogenesis that are the hallmarks of high-grade gliomas.

Advanced techniques such as perfusion and diffusion-weighted MRI can provide additional physiologic information unavailable from standard MRI (44, 48). Determination of perfusion and diffusion parameters is currently undertaken in the research and clinical settings using software that relies upon accurate ROI analysis. However, ROI-based analysis has a critical limitation, since only averaged values are evaluated. In addition, it may result in inaccuracies due to tumor heterogeneity and inter-observer variability in selecting ROIs (49).

Using the whole tumor as the volume-of-interest (VOI), we assessed the diagnostic accuracy of histogram analysis of the ADC and T1-weighted dynamic contrast-enhanced MRI perfusion parameters plasma volume (V_p) and permeability constant (K_{trans}) in the preoperative evaluation of gliomas. The purpose of the study was to evaluate the sensitivity and specificity of V_p , K_{trans} and ADC for distinguishing low- from high-grade tumors non-invasively. We hypothesized that T1-weighted DCE-MRI perfusion parameters would perform better than ADC in discriminating between glioma grades.

Materials and Methods

Subjects

This study was compliant with the Health Insurance Portability and Accountability Act. Informed consent was waived by the institutional review board. In a hospital database, records from the period of January 2012 through July 2014 were retrospectively reviewed to identify all patients meeting the following inclusion criteria: 1) pathologically-confirmed glioma diagnosis on the basis of the WHO classification for tumors of the central nervous system; 2) baseline diffusion-weighted MRI sequences with corresponding ADC maps and 3) baseline DCE-MRI perfusion scan with matching post-contrast axial T1-weighted images. A total of 63 consecutive patients (27 female and 36 male) with a mean age of 54 years were included in the study.

MRI Acquisition

MRI sequences were acquired with a 1.5 Tesla MRI scanner (GE Healthcare, Milwaukee, Wisconsin) and a standard 8-channel head coil. Gadopentetate dimeglumine (Magnevist; Bayer HealthCare Pharmaceuticals, Wayne, New Jersey) was injected via a venous catheter (18–21 gauge) at doses standardized by patient body weight (0.2 mL/kg body weight, maximum 20 mL) at 2–3 mL/sec. DCE-MRI of the brain was acquired as part of a standard clinical protocol with a 3D T1-weighted SPGR sequence (TR 4–

5ms; TE 1-2ms; slice thickness, 3 mm; flip angle, 25°; field-of-view, 24 cm; matrix 256 x 128; temporal resolution (Δt) 5-6s. Ten-phase pre-injection time delay was applied along with 30-phase dynamic injection imaging. Matching contrast T1-weighted (TR/TE=600/8 ms; thickness=4.5 mm) and T2-weighted (TR/TE=4000/102 ms; thickness=4.5 mm) spin-echo images were obtained. Ten slices covering the lesion with slice thickness of 3mm were acquired.

Diffusion-weighted imaging (DWI) was performed in the transverse plane using a spin-echo, echo-planar imaging (EPI) sequence with the following parameters: TR/TE, 8000/104.2ms; diffusion gradient encoding in 3 orthogonal directions; $b = 1000 \text{ s/mm}^2$; FOV, 240 mm; matrix size, 128×128 pixels; slice thickness, 5 mm; section gap, 1 mm; and number of average=2. DWI scans were performed before DCE-MRI. The ADC values were calculated as follows: $ADC = [\ln(S/S_0)]/b$, where S is the SI of the region of interest (ROI) obtained through 3 orthogonally oriented DWIs or diffusion trace images, S_0 is the SI of the ROI acquired through reference T2-weighted images, and b is the gradient b factor with a value of 1000 s/mm^2 . ADC maps were calculated on a pixel-by-pixel basis.

Data analysis

DCE-MRI perfusion raw data, ADC maps and T1-weighted images were transferred to an off-line workstation. Perfusion data were processed with FDA-approved commercial software (NordicICE; Nordic Neuro Lab, Bergen, Norway). Preprocessing for the perfusion data included noise adjustments

and automatic selection of arterial input function (AIF). The AIF was obtained independently for every patient from the Middle Cerebral Artery. Linear assumption between change in signal intensity and gadolinium concentration was made to convert signal intensity curve to concentration-time curve. Curves showing an optimal relationship between AIF and concentration-time curve were carefully selected. We used the perfusion analysis method based on the 2-compartment pharmacokinetic model proposed by Tofts to calculate pharmacokinetic parameters, including blood plasma volume (V_p) and time-dependent leakage (K_{trans}), and to display the results as parametric maps (17). A radiologist with 7 years of experience manually delineated a 3D ROI defining the margins of the enhancing tumor on each axial plane on T1 post-contrast images for enhancing tumors and on FLAIR for non enhancing tumors, creating a VOI. The radiologist was blinded to the results of the biopsies and other clinical data including age and gender. Special care was taken to exclude intralesional macrovessels in order not to contaminate the measurements. VOIs were transferred to parametric maps to obtain the pharmacokinetic parameters V_p and K_{trans} .

Postprocessing of ADC maps was performed by using Functool software (AW 5.2, GE Healthcare, Milwaukee, Wisconsin), and ROIs were manually drawn on ADC maps throughout the entire tumor using post-contrast axial T1-weighted and FLAIR sequences. All parameters were normalized to a ratio of tumor / normal parenchyma by placing ROIs in normal white/gray

matter of the contralateral hemisphere in a healthy-looking area of brain parenchyma.

The measurements were binned and histogram analysis was performed to determine the mean and maximal values for V_p and K_{trans} and the mean and minimum values for ADC.

Two experienced neuroradiologists visually assessed the radiological characteristics of the different groups on T1-weighted pre-contrast, post-contrast, T2-weighted, FLAIR sequences and parametric maps.

Statistical Analysis

A Mann-Whitney U test at a significance level of corrected $p < 0.01$ was conducted to assess the differences between the DCE-MRI perfusion parameters (V_p and K_{trans}) and ADC values for the different tumor grades. Significance was achieved after a Bonferroni adjustment. In addition, receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was applied to assess the sensitivity and specificity of perfusion parameters and ADC values.

Results

Patient Population

Our patient cohort was comprised of 63 individuals, 36 male (57 %) and 27 female (43%) with a mean age of 54.3 years. Twenty (31.5%) of the 63 patients, were in the low-grade glioma group (grade II); 10 (16.12%) of these

patients had diffuse astrocytomas, 6 (9.6%) had oligodendrogliomas and 4 (6.45%) had oligoastrocytomas. Forty-three patients (68.5%) were in the high-grade glioma group (grades III and IV); 10 (16.12%) of these patients had anaplastic astrocytomas, and 33 (52.4%) of these patients had glioblastomas.

Conventional MRI and Perfusion Maps

In our study, low-grade gliomas (grade II) presented T1 hypointense or isointense signal and T2/FLAIR hyperintense signal compared to white matter. Little or no enhancement was conspicuous in the majority of low-grade tumors. Perfusion maps demonstrated modest or no elevation of V_p and K_{trans} in these tumors (**Figure 3.1A**).

Grade III gliomas (anaplastic astrocytomas) presented with T1 hypointense signal and T2/FLAIR hyperintense signal. Enhancement was variable, but most of these gliomas showed some degree of enhancement. Perfusion parameters were elevated in all cases(**Figure 3.1B**)..

In grade IV gliomas (GBM) enhancement was intense and heterogeneous and all cases demonstrated increased perfusion (**Figure 3.1C**).

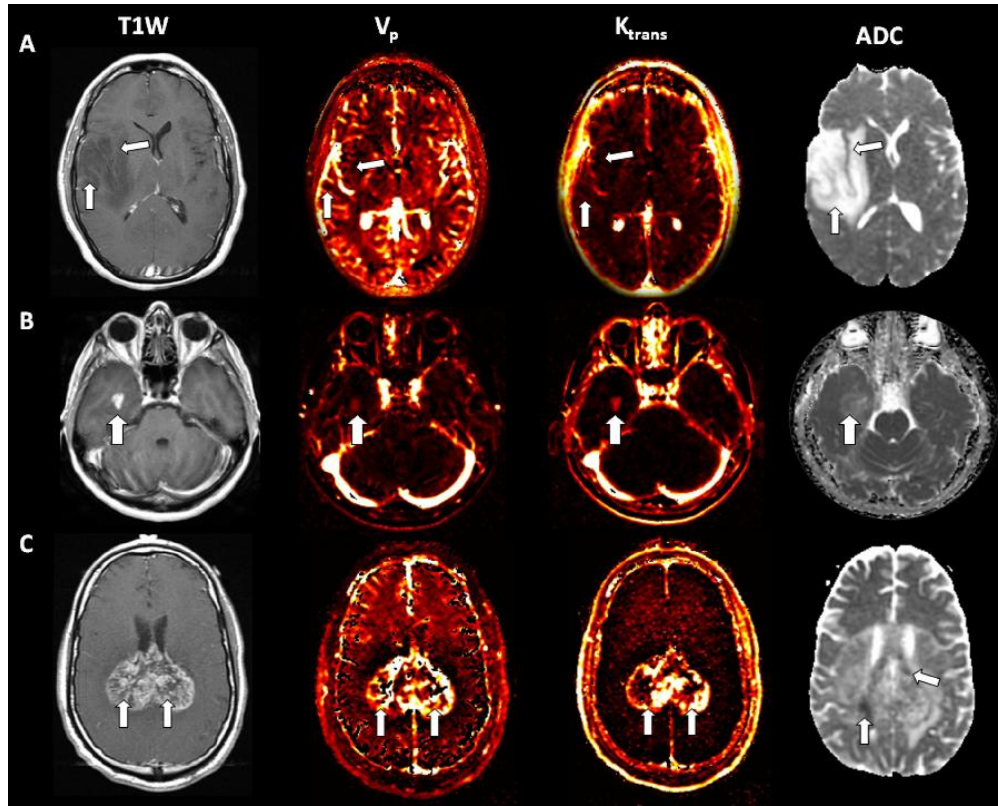


Fig 3.1. **A.** T1-weighted post-Gd axial image of a right frontotemporal low-grade glioma demonstrating lack of enhancement (arrows). Corresponding perfusion maps V_p and K_{trans} depicting no or little increased perfusion. ADC map of the same patient with manifest increased signal. **B.** T1-weighted post-Gd axial image of a right temporal anaplastic astrocytoma (grade III) with solid enhancement (arrow). The matching V_p and K_{trans} perfusion maps illustrate increased perfusion. The corresponding ADC map of the same patient shows some areas of subtle decreased signal. **C.** T1-weighted post-Gd axial image of a biparietal glioblastoma (grade IV) crossing the splenium of the corpus callosum with marked heterogeneous enhancement (arrows). The matching V_p and K_{trans} perfusion maps demonstrate increased perfusion. The corresponding ADC map of the same patient shows some areas of decreased signal (arrows) orienting towards high cellularity.

Quantitative Perfusion Analysis

Values of all parameters are displayed in **Table 3.1** and **Figure 3.2**. The measurements of mean V_p (V_p Mean) and maximum V_p (V_p Max) in the low-grade and the high-grade groups differed significantly ($p < 0.001$). When separated according to grades, V_p Mean and V_p Max values differed significantly between grades II and III ($p < 0.01$), grades III and IV ($p < 0.01$)

and grades II and IV ($p < 0.001$). No differences were found among low-grade gliomas when comparing the different histologies (astrocytomas, oligodendrogliomas and oligoastrocytomas).

Mean K_{trans} ($K_{trans}Mean$) and maximum K_{trans} ($K_{trans}Max$) values were also lower in low-grade gliomas than in high-grade gliomas ($p < 0.001$). Both parameters showed significant differences between grades II and III ($p < 0.01$), grades III and IV ($p < 0.01$) and grades II and IV ($p < 0.001$).

Minimum ADC (ADCmin) also proved to be useful for distinguishing between low-grade and high-grade gliomas ($p < 0.001$) and differed significantly between grades II and III, grades III and IV ($p < 0.01$), and grades II and IV ($p < 0.001$). Mean ADC (ADCmean) values differed significantly between high- and low-grade gliomas and between grades II and IV ($p < 0.01$). However, they did not differ significantly between grades II and III ($p = 0.1$) or grades III and IV ($p = 0.73$).

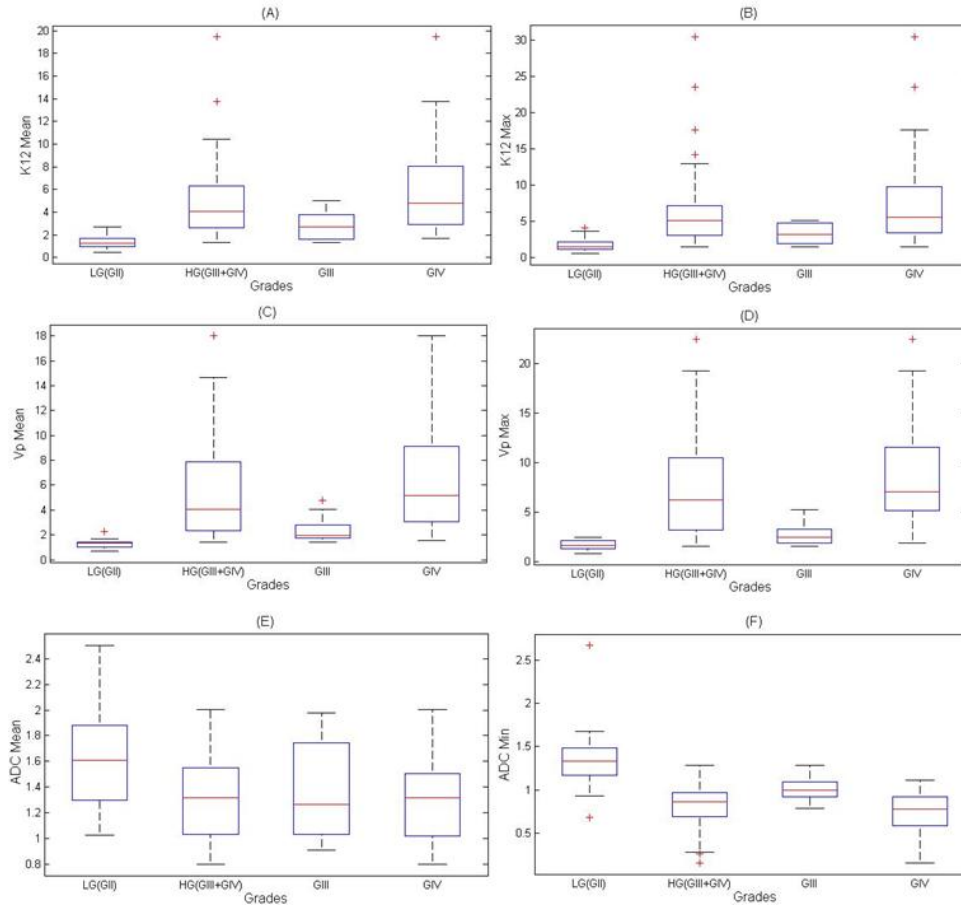
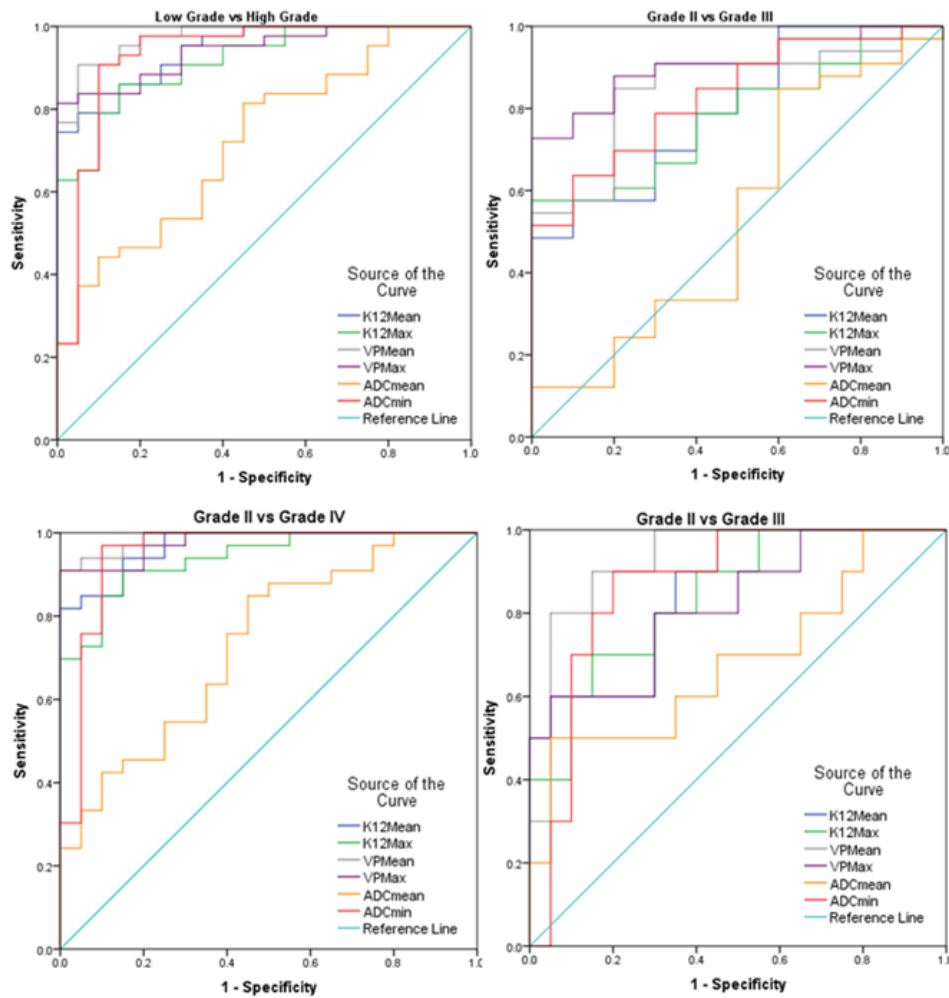


Fig 3.2 A box plot illustrating the mean values and standard deviations for the DCE-MRI perfusion parameters K_{trans} , V_p and ADC in Low Grade gliomas (Grade II), High Grade gliomas (Grade III + IV), Grade III, and Grade IV.

ROC Analysis:

V_p Mean demonstrated the highest area under the curve (AUC) (0.974; see **Fig. 3.3**) when comparing high and low grade gliomas. V_p Mean also showed the highest AUC (0.93) for the comparison between grade II and grade III. V_p Max had the highest AUC (0.906) in the evaluation of grade III and IV and also grade II and IV with an AUC (0.988). The cut-off values with corresponding sensitivity and specificity are displayed in **Table 3.2**.



(specificity) and the false positive rate (sensitivity) of DCE-MRI perfusion parameters Vp and Ktrans and ADC in classifying Low Grade vs High Grade gliomas, Grade II vs Grade III, Grade II vs Grade IV and Grade II vs grade III.

Table 3.2 Cut-off Values with Sensitivity and Specificity				
	Low vs High Grade	Grade II vs III	Grade III vs IV	Grade II vs IV
K _{trans} Mean	2.556; 79.1%; 95%	1.608; 80%; 70%	3.203; 69.7%; 70%	1.928; 93.9%; 85%
K _{trans} Max	2.675; 86%; 85%	1.915; 80%; 70%	4.389; 66.7%; 70%	2.675; 90.9%; 85%
V _p Mean	1.726; 90.7%; 95%	1.578; 90%; 85%	2.864; 84.8%; 80%	1.734; 93.9 %; 95%
V _p Max	2.354; 83.7%; 95%	1.778; 80%; 70%	3.518; 87.9%; 80%	2.793; 90.9%; 100%
ADC Min	1.078; 90.7%; 90%	1.138; 90%; 80%	0.93; 78.8%; 70%	1.075; 97%; 90%

Cut-off value; Sensitivity; Specificity

Discussion

This study was designed to assess and compare the use of histogram analysis of V_p and K_{trans} (obtained from T1-weighted DCE-MRI) and ADC (obtained from diffusion-weighted MRI) to improve diagnostic accuracy in the differentiation of low- and high-grade gliomas in newly-diagnosed, untreated tumors. ADC and perfusion parameters are usually analyzed from multiple small region-of-interest (ROI) measurements. That method has been shown to be reasonably reproducible, though it remains a subjective, operator-dependent technique, inevitably associated with interobserver and intraobserver variability. In light of tissue heterogeneity, it has been suggested that the sampling error that occurs with the use of regions of interest contributes substantially to the unreliability of ADC maps for differentiating between tumor grades (41). Histogram analysis of imaging parameters is a more reproducible and objective method that allows inexperienced operators to obtain reliable data. In prior studies, histogram analysis has proven to be comparable to, if not superior to, current ROI-based methods for calculating the maximum value of relative cerebral blood volume (rCBV) (rCBVmax) (60). We hypothesized that by selecting the entire volume of the tumor, we could more accurately measure perfusion and diffusion within the tumor and use the histogram function to more objectively analyze the tumor results. Prior studies in the literature have found maximal perfusion values and minimum ADC values to be the most accurate for glioma grading (44). Thus we performed a histogram analysis of V_p , K_{trans}

and ADC, and calculated mean and maximum values for V_p and K_{trans} , and mean and minimum values for ADC.

Perfusion parameters are potentially useful in the characterization of gliomas, since they tend to correlate with the level of neovascularization and consequently the degree of malignancy (43, 44, 61, 62). Considering that the degree of malignancy of a tumor can be represented by the most malignant area, it is reasonable to expect perfusion parameters to have potential for categorizing tumor malignancy (63). Prior studies have successfully characterized high- and low-grade gliomas using perfusion parameters (44, 64). Some of these studies were performed using Dynamic Susceptibility Contrast (DSC) MRI. However, this technique has some limitations: It is difficult to derive absolute quantitative measurements from DSC MRI, since there is no linear relationship between contrast medium concentration and signal changes (24). DSC MRI is susceptible to artifacts from large vessels or bones (4). Also, contrast medium leakage through the blood brain barrier is not accounted for (24, 65). DCE-MRI, on the other hand, looks at the brain vessels in a different way that permits quantitative assessment of the blood-brain barrier and vascular permeability using compartment modeling (4). Estimations of tumor blood volume and permeability obtained with dynamic contrast-enhanced imaging techniques (MRI or Perfusion CT) have been found to correlate with tumor grade, prognosis, and treatment response. (61, 66). These imaging parameters have been shown to be markers of tumor vascular attenuation and angiogenesis in gliomas (23).

Using DSC perfusion, Hilario et al. demonstrated significant differences ($p < 0.001$) in CBV values between high- and low-grade gliomas, between grades II and IV, and also between grades III and IV. They could not show significant differences, however, between grade II and grade III gliomas (44). Jung et al performed a histogram analysis of the DCE MRI variables V_p , K_{trans} and V_e from a slightly smaller sample of patients ($n=28$), which demonstrated that K_{trans} was the most significant pharmacokinetic parameter for glioma grading (64). We postulated that high-grade gliomas would present significantly higher vascularity and permeability than would low-grade gliomas. In our study, all perfusion parameters proved to be good biomarkers for distinguishing between high-grade and low-grade gliomas ($p < 0.001$). In contrast to Jung et al. (64), we found that V_p mean was the best discriminator of glioma grade in most comparisons (grade II vs. grade III, grade II vs. grade IV, and high grade vs. low grade). V_p Max was the best parameter, however, to differentiate between grades III and IV, with a cutoff value of 3.52 demonstrating high sensitivity (88%) and specificity (80%). The reason for this difference in results may be due to the fact that our data set included a larger number of patients (63 patients versus 28 patients in Jung et al study). Further analysis with larger cohorts to test both parameters K_{trans} and V_p would be useful.

DWI has been found to be a helpful noninvasive method for evaluating the cellularity of tumors. ADC maps illustrate the reduction of mobility of water molecules due to high cellularity, with a decrease in ADC values suggesting

higher-grade tumor (44, 61). In our study, ADC_{mean} demonstrated statistically significant differences only between low-grade and high-grade gliomas, whereas ADC_{min} proved to be a useful biomarker to distinguish between all grades, with high sensitivity and specificity for all comparisons. The reason for this results may be that we analyzed the entire volume of the tumor, including cystic and necrotic areas. Cystic and necrotic areas could influence ADC measurements, since they are frequently present in high-grade gliomas and therefore increase the ADC values (41). Necrotic areas display low intensity in diffusion-weighted MR images and high intensity in ADC maps, since necrosis is associated with low cellularity. Some studies have demonstrated a high correlation between the degree of tumor necrosis at pathology and the ADC values of ROIs (41). Lee et al. considered that necrosis could be possibly a confusing factor for the grading of gliomas based on ADC maps since mean ADC values of the entire tumor including cystic or necrotic areas are higher than those in active tumor lesions (41). In their study they demonstrated that the exclusion of cystic or necrotic portions from the ROI improved the differentiation between low- and high-grade gliomas (41). The results obtained from our histogram analysis of mean ADC values are in agreement with previously published findings. Our histogram analysis of the ADC minimum values, however, showed highly significant differences between all grades of gliomas.

Our study had several potential limitations. First, some of the tumors included in our study had ill-defined margins that made it more difficult to

distinguish tumor from healthy parenchyma and thus to properly delineate the tumor contour. Although this problem could lead to errors in reproducibility, the VOI included the entirety of the tumor and the histogram analysis could display the full range of values in order to obtain reliable voxel values. Second, pathologic misdiagnosis due to sampling error, although unlikely, was possible due to heterogeneity of specimens in which various cell populations may coexist; such heterogeneity is typical in high-grade tumors. In the low-grade group, we included a heterogeneous group of tumors with different histologies, which presented with different perfusion patterns. This may have affected the overall results, since oligodendrogliomas have been reported to have elevated perfusion parameters values (67). However, in our study, possibly due to the rather small number of oligodendroglial tumors in the sample, these tumors did not show significantly increased perfusion parameters, so they could not have skewed the results in the low-grade group. In addition, the sample sizes for the low-grade and high-grade glioma groups were somewhat uneven, with a larger number of patients in the high-grade group. However, this circumstance could not be avoided, because high-grade gliomas are more common than low-grade gliomas among the general population, and we recruited consecutive patients.

Conclusion

The results of our study demonstrate that quantitative histogram analysis of T1-weighted perfusion parameters V_p and K_{trans} from DCE-MRI, as well as ADC from diffusion-weighted MRI, can be useful for the non-invasive

assessment of glioma grade. Though all measurements in our study were significant predictors of glioma grade, V_p mean stood out as the best predictor. Combining T1-weighted perfusion parameters V_p and K_{trans} with ADC could potentially improve diagnostic accuracy and have an impact on clinical outcome.

***T1-WEIGHTED DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED MRI AS A NON-
INVASIVE BIOMARKER OF EGFRvIII STATUS***

Julio Arevalo-Perez *, Alissa A Thomas *, Thomas Kaley, John Lyo, Kyung
K Peck, Andrei I. Holodny, Ingo K. Mellinghoff, Weiji Shi, Zhigang Zhang,
Robert J Young

*The first two authors contributed equally to the work as co-authors

From the Departments of Radiology (JAP, JL, AIH, RJY), Neurology (AAT,
TK, IKM), Medical Physics (KKP) and Epidemiology & Biostatistics (WS,
ZZ); and the Brain Tumor Center (TK, JL, AIH, RJY); Memorial Sloan
Kettering Cancer Center, New York, New York

Published in the American Journal of Neuroradiology. Copyright © 2015 by
the American Society of Neuroradiology.

Abstract

Background and Purpose:

Epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) is a common
mutation in glioblastoma, found in approximately 25% of tumors. EGFRvIII
may accelerate angiogenesis in malignant gliomas. We correlate T1-
weighted dynamic contrast-enhanced (DCE) MRI perfusion parameters with
EGFRvIII status.

Materials and Methods:

Eighty-two consecutive patients with glioblastoma and known EGFRvIII status who had DCE-MRI before surgery were evaluated. Volumes-of-interest were drawn around the entire enhancing tumor on contrast T1-weighted images and then transferred onto coregistered DCE-MRI perfusion maps. Histogram analysis with normalization was performed to determine the relative mean, 75th percentile and 90th percentile values for plasma volume (rVP) and permeability transfer constant (rK^{trans}). A Wilcoxon rank-sum test was applied to assess the relationship between baseline perfusion parameters and positive EGFRvIII status. The ROC method was used to select the cutoffs of the DCE-MRI perfusion parameters.

Results:

Increased rVP and increased rK^{trans} parameters were both significantly associated with positive EGFRvIII status. For EGFRvIII-positive tumors, rVP mean = 9.3, rK^{trans} mean = 6.5; for EGFRvIII-negative tumors, rVP mean = 3.6, rK^{trans} mean = 3.7 (rVP mean $p < 0.0001$ and rK^{trans} mean $p = 0.008$). The predictive powers of rVP histogram metrics outperformed those of the rK^{trans} histogram metrics ($p \leq 0.004$).

Conclusion:

DCE-MRI shows greater perfusion and leakiness in EGFRvIII-positive glioblastomas than in EGFRvIII-negative glioblastomas, consistent with the known effect of EGFRvIII on angiogenesis. Quantitative evaluation of DCE-

MRI may be useful as a non-invasive tool for correlating EGFRvIII expression and related tumor neoangiogenesis. This may have implications for monitoring response to EGFRvIII-targeted therapies.

Introduction

Glioblastoma is the most common and aggressive primary brain tumor. A highly malignant tumor, it is associated with a dismal median survival of only 14 months with standard radiochemotherapy.(50) Glioblastoma is characterized by histologic heterogeneity with areas of active cellular proliferation and mitoses admixed with areas of necrosis. Large-scale genetic sequencing has revealed “driver” mutations in several common pathways that contribute to glioblastoma growth (23). Among these, over-activation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) membrane tyrosine kinase receptor pathway contributes to rapid aberrant cell proliferation and drives tumor growth and development.(21, 51, 52) EGFR variant III (EGFRvIII) is the most common EGFR mutation in glioblastoma, occurring in 25-35% of cases.(53) EGFRvIII is characterized by deletion of exons 2-7 in the extracellular domain, rendering the receptor constitutively active. EGFRvIII status is determined either through exon sequencing or fluorescence in-situ hybridization (FISH) on tumor specimens.

The growing interest in EGFRvIII-specific therapy and other EGFR-targeted treatments for glioblastoma demands a better understanding of the correlation between molecular changes in tumors and neuro-imaging features. Prior studies have demonstrated a correlation of T2* dynamic susceptibility contrast (DSC) MRI perfusion with EGFR amplification and EGFRvIII mutations.(21, 54) The role of T1-weighted DCE-MRI in distinguishing molecular subpopulations of glioblastoma, however, has not been well

established. DCE-MRI offers several technical advantages over DSC MRI, including improved characterization of tumor vascularity through quantification of plasma volume (VP) and improved characterization of tumor leakiness through calculation of the contrast transfer coefficient K^{trans} .(4, 24, 55) The purpose of this study was to examine the relationship between T1-weighted DCE-MRI perfusion parameters and EGFRvIII status in patients with newly diagnosed glioblastoma. We hypothesized that patients with positive EGFRvIII glioblastomas would demonstrate increased perfusion and leakiness at DCE-MRI as compared to patients with EGFRvIII-negative glioblastomas.

Materials and Methods

Protocol Approval and Informed Consent

The local institutional review board approved this retrospective study, which was compliant with the Health Insurance Portability and Accountability Act (HIPAA) regulations. The requirement to obtain patients' informed consent was waived.

Subjects

A hospital database was queried for the period from March 2011 through March 2014 to identify all patients meeting the following inclusion criteria: 1) pathologically confirmed glioblastoma diagnosis after biopsy or resection, 2) EGFRvIII status obtained from the biopsy or the resection specimen and 3) baseline DCE-MRI perfusion scan with matching postcontrast axial T1-

weighted images before surgery. EGFRvIII status was determined by reverse transcriptase (RT) polymerase chain reaction (PCR) amplification of the corresponding exons followed by a single base extension at the site of the mutation. The single base extension product was detected by tandem mass-spectrometry on a Sequenom MassArray Spectrometer and reported in a binary manner as either positive or negative.

MRI protocol

MRI sequences were acquired with a 1.5T or 3.0T MRI scanner (Signa Excite, HDx, and Discovery 750; GE Healthcare, Milwaukee, Wisconsin) and a standard 8-channel head coil. Gadopentetate dimeglumine (Magnevist; Bayer HealthCare Pharmaceuticals, Wayne, New Jersey) was power injected via an intravenous catheter (18–21 gauge) at doses standardized by patient body weight (0.2 mL/kg body weight, maximum 20 mL) at 2–3 mL/sec. DCE-MRI of the brain was acquired as part of a standard clinical protocol with a 3D T1-weighted SPGR sequence (TR, 4–5 ms; TE, 1–2 ms; slice thickness, 5mm; flip angle, 25°; field-of-view, 24 cm; matrix, 256×256; temporal resolution (Δt), 5–6 s. Ten phases were acquired pre-injection followed by another 30 phases during the dynamic injection of intravenous contrast and then a 40-cc saline flush. Matching contrast T1-weighted (TR/TE=600/8 ms; thickness=5 mm) spin-echo images were obtained.

Imaging Analysis

DCE perfusion MRI raw data and T1-weighted images were transferred to an off-line workstation and processed by using commercially available software (nordicICE; Nordic Neuro Lab, Bergen, Norway) by a trained radiologist who was blinded to EGFRvIII status. Preprocessing steps included noise adjustments and semi-automated selection of the arterial input function (AIF). This allowed the operator to optimize the signal-to-noise ratio and to optimize the AIF by selecting an appropriate artery to characterize the input function curve and the concentration-time curve.(64) The AIF was calculated individually for every patient. Appropriate curves demonstrating an optimal relationship between the AIF and the concentration-time curve were selected.

Based on the 2-compartment pharmacokinetic model proposed by Tofts, the perfusion analysis method was applied to determine pharmacokinetic parameters, and the results were displayed as parametric maps.(17)

Volumes-of-interest (VOIs) were drawn on axial planes on contrast T1-weighted images, excluding intralesional macrovessels in order not to contaminate the measurements. VOIs were transferred to coregistered parametric maps to obtain the pharmacokinetic parameters VP and K^{trans} . Parameters were then normalized using the ratio of tumor to normal white matter by placing ROIs in normal white matter of the contralateral hemisphere in a healthy-appearing area of brain parenchyma.

The values were then binned into histograms, and the relative mean VP (rVP_{mean}), 90th percentile VP ($rVP_{90\% \text{tile}}$) and 75th percentile ($rVP_{75\% \text{tile}}$) ratios were recorded, along with the relative mean K^{trans} ($rK^{\text{trans}}_{\text{mean}}$), 90th percentile K^{trans} ($rK^{\text{trans}}_{90\% \text{tile}}$) and 75th percentile K^{trans} ($rK^{\text{trans}}_{75\% \text{tile}}$) ratios.

Statistical analysis

Univariate analysis using the Wilcoxon rank-sum test was performed to examine the correlations between the rVP and rK^{trans} histogram parameters and EGFRvIII status.

The cutoffs of the DCE-MRI perfusion parameters were selected using the receiver operating characteristic (ROC) method. The areas under the ROC curves of the perfusion parameters were compared using the Delong test. The statistical analysis was performed with the software SAS version 9.2 (SAS Institute Cary, NC) and r package ROCR and pROC (version 3.1.2). The significance level was set to $p\text{-value}=0.05$.

Results

Patient characteristics

Eighty-two consecutive treatment-naïve patients with glioblastoma were included in the study. Twenty-four (29.3%) patients had positive EGFRvIII status while 58 (70.7%) had negative EGFRvIII status. The median age was

66.7 (range, 38-87) years, and there were 21 women (25.6%) and 61 men (74.4%).

Table 4.1. Analysis of relationship between baseline perfusion parameters and EGFRvIII mutation status.

Perfusion Parameter*	EGFRvIII Status (median, range)		p-value	AUC**
	negative (n=58)	positive (n=24)		
rVP_{mean}	3.6 (1.5 - 18.1)	9.3 (2.9 - 29.3)	<0.0001	0.818
rVP_{90%tile}	5.1 (1.6 - 19.1)	10.7 (4.1 - 30.2)	<0.0001	0.833
rVP_{75%tile}	4.2 (1.6 - 18.4)	9.2 (3.5 - 28.1)	<0.0001	0.821
rK^{trans}_{mean}	3.7 (1.1 - 20.3)	6.5 (1.7 - 22.4)	0.008	0.688
rK^{trans}_{90%tile}	4.8 (1.5 - 22.6)	7.6 (2.1 - 31.8)	0.02	0.669
rK^{trans}_{75%tile}	4.2 (1.4 - 19.7)	6.8 (1.9 - 24.7)	0.007	0.692

*All values are relative ratios normalized to tumor/contralateral normal tissue

**AUC=Area Under the Curve in the ROC analysis

DCE-MRI

As summarized in **Table 4.1**, increased VP and increased K^{trans} were associated with positive EGFRvIII status for all histogram metrics. rVP_{mean}, rVP_{90%tile} and rVP_{75%tile} were better predictors than rK^{trans}_{mean}, rK^{trans}_{90%tile} and rK^{trans}_{75%tile}, with p-values ≤0.004. A representative case is shown in **Figure 4.1**.

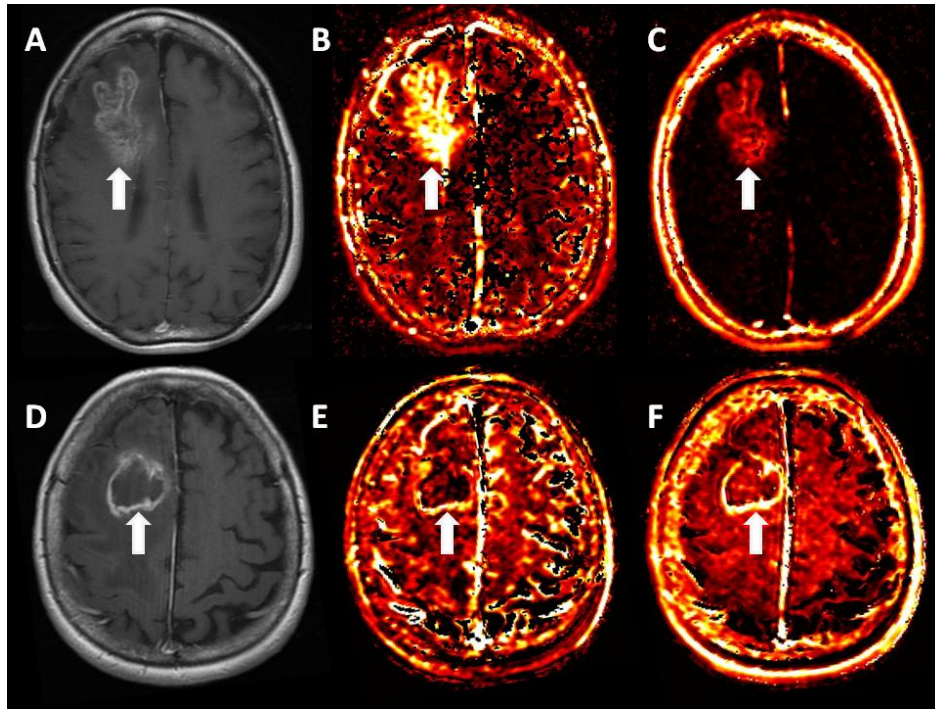


Figure 4.1. Representative DCE-MR images and parametric maps from a patient with EGFRvIII-positive glioblastoma. Axial contrast T1-weighted (A) image demonstrates a large heterogeneously enhancing tumor in the right frontal lobe. Corresponding VP (B) and K^{trans} (C) maps reveal increased perfusion and increased leakiness, respectively, as indicated by the arrows. Matching images in a non-EGFRvIII glioblastoma in the right frontal lobe (D-F) show little increase in VP or K^{trans} .

The areas under the ROC curves for the VP metrics were 0.818-0.833, while those for the K^{trans} metrics were 0.669-0.692. Using ROC analysis, a threshold value for $VP_{90\%tile} > 9.50$ yielded a specificity of 89.7% and a sensitivity of 62.5% for predicting positive EGFRvIII status (**Figure 4.2**).

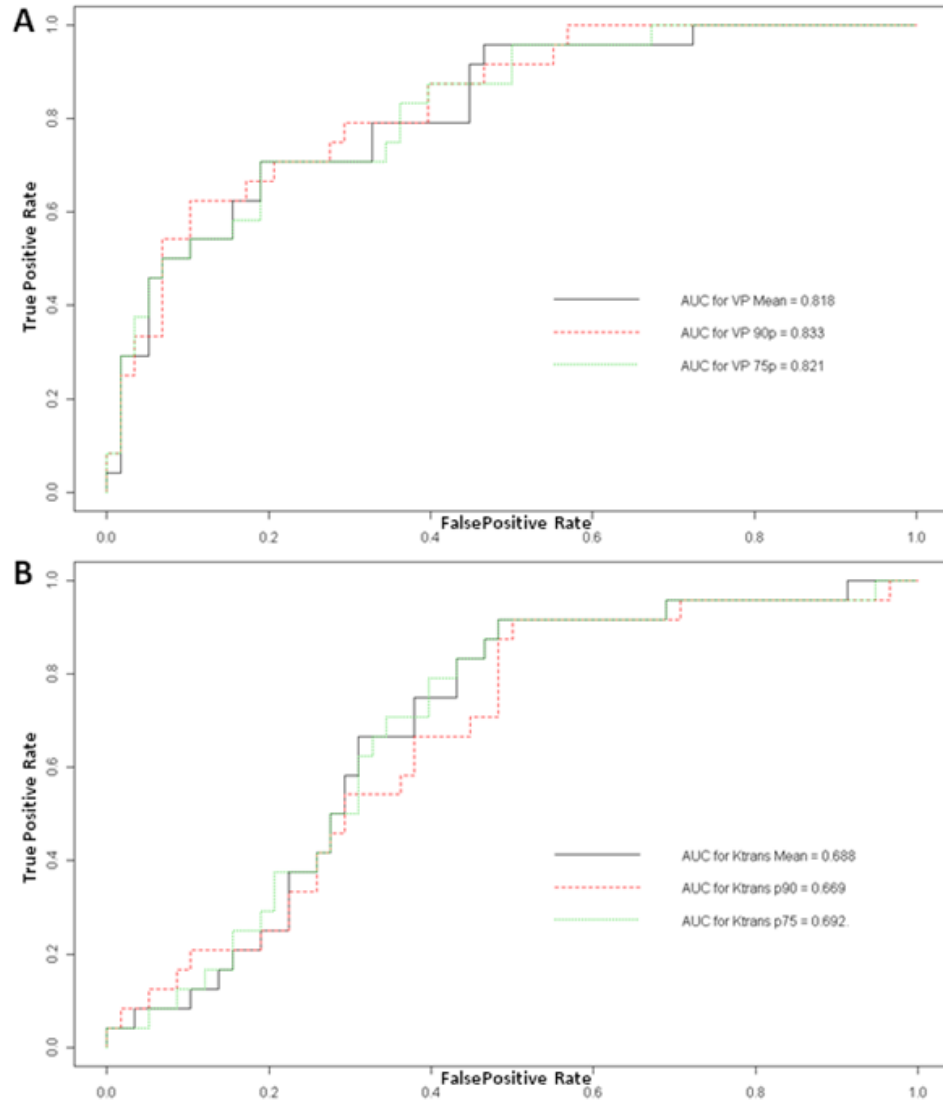


Figure 4.2. Discrimination power of baseline Vp (A) and K^{trans} (B) perfusion parameters for EGFR status (positive vs. negative).

Discussion

We demonstrated that perfusion and leakiness, as determined by rVP and rK^{trans} histogram parameters, respectively, were greater in EGFRvIII-positive glioblastomas than in EGFRvIII-negative glioblastomas. These results suggest that DCE-MRI parameters may be useful imaging biomarkers to follow in patients with EGFRvIII-positive tumors, or other tumors with

abnormal pre-treatment parameters. We postulate that this radiogenomic characterization may be particularly relevant in patients undergoing active targeted, mutation specific treatment, where changes in perfusion and leakiness could be used to repetitively and noninvasively evaluate treatment efficacy in lieu of surgery.

Alteration of EGFR is among the frequent oncogene mutations in primary glioblastomas.(68-70) In addition to promoting cellular growth and proliferation, EGFRvIII accelerates tumor angiogenesis and induction of pro-angiogenic factors, including vascular endothelial growth factor (VEGF), interleukin 18 (IL-18), and angiopoietin-like 4 in the extracellular signal-regulated kinase (ERK) and c-Myc pathways, to confer a more heterogeneous and aggressive phenotype.(71-73) (74) These increases in angiogenic activity in EGFRvIII patients may manifest at DCE-MRI as increased VP, which is a measure of the tumor blood plasma volume per unit volume of tissue, and as increased K^{trans} , the volume transfer constant between the blood plasma and the extravascular extracellular space.

Due to its unique protein sequence and tumor-specific expression, EGFRvIII is an attractive target for drug therapy. Several small molecular tyrosine kinase inhibitors with affinity for the EGFR receptor are available on the market and under development in clinical trials.(75). A glioblastoma vaccine based on a unique EGFRvIII peptide sequence is currently under investigation in a phase III clinical trial.(76) Effective implementation of these novel targeted therapies will require parallel development of targeted

imaging technologies such as DCE-MRI also specific for particular mutations.

Perfusion on MRI has been shown to correlate with glioma grade, prognosis, and response to treatment. (61, 63, 66, 77, 78) Perfusion parameters may be useful as imaging markers of vascular attenuation and angiogenesis in gliomas.(23, 79) Increased relative tumor blood volume shown by DSC perfusion MRI has been associated with EGFR amplification and EGFRvIII mutation.(21, 54) The T2* technique may render DSC MRI inadequate, however, in areas with leakage of contrast through an abnormal blood brain barrier, or in areas with strong susceptibility artifact due to blood, vessels, bones and air interfaces such as near the skull base.(24, 65) DCE-MRI offers several potential advantages (4), the most important of which is the more accurate quantification of perfusion and leakiness through greater spatial resolution, steady-state imaging and advanced compartmental modeling.(4, 24, 55) We also advocate the use of histogram analysis after whole-tumor VOI evaluation, which should yield measurements that are more objective and reproducible and less user-dependent than those obtained with the usual ROI-based methods.(54, 60)

There are a few potential limitations to the present study. First, this was a retrospective study that included patients with glioblastoma with EGFRvIII status determined by RT-PCR. Whole exome sequencing was not available for these patients, so we did not account for other mutations or amplifications in EGFR that may also correlate with changes in DCE-MRI. Our observed

frequency of mutant EGFRvIII, however, was consistent with the frequency reported in the literature.(21, 80) Second, given the retrospective nature of this study, an inherent limitation is the absence of stereotactic localization in cases of biopsy or subtotal resection. Tissue sampling error may confound the assessment of EGFRvIII status, i.e., undersampling of less metabolically active areas in heterogeneous tumors may lead to erroneous correlations, e.g., false negatives. Third, the VOIs were manually drawn around the enhancing tumor and then transferred onto the co-registered DCE-MRI perfusion maps, which may have introduced bias and variability. For example subjectivity would be expected in terms of exclusion of vessels within the lesions. To account for this, the VOIs were inspected in each case and adjusted as necessary to match the enhancing tumor. To reduce operator variability, we chose to have all of these steps carried out by a single experienced user trained in the use of the DCE-MRI software. Other groups have advocated semi-automated segmentation and co-registration; however, the validity and inter-institutional reproducibility of results obtained with their proprietary tools, which were developed *in-house*, remain unproven.(81) We believe that the expertise of a trained user of commercially available DCE-MRI software best matches the expertise available at most institutions and broadens the applicability of our results. A dual rater or multiple rater consensus approach could have also been an optimal way to assess uniform ROI placement.

Conclusion

In conclusion, we found that EGFRvIII-positive glioblastomas demonstrate greater vascular leakiness and perfusion than do EGFRvIII-negative glioblastomas. Quantitative evaluation of DCE-MRI may be useful as a non-invasive tool for correlating EGFRvIII expression and related tumor neoangiogenesis. This may have implications for monitoring response to EGFRvIII-targeted therapies.

DISCUSIÓN

DISCUSION INTEGRADORA

La RM se ha convertido en la modalidad de diagnóstico por imagen mas utilizada en la neurociencia en el estudio de patologia tanto cerebral como de la médula espinal. Una de las muchas ventajas de la resonancia magnética en el sistema nervioso central es que las señales de radiofrecuencia son capaces de penetrar fácilmente el cráneo y la columna vertebral, lo que permite obtener imágenes sin interferencias del tejido que alberga. Al mismo tiempo los artefactos de movimiento se limitan a los que realiza el paciente de forma voluntaria o involuntaria al contrario de lo que sucede en el tórax o el abdomen, donde la respiración dificulta la adquisición homogénea de imágenes. La RM ofrece una visualización óptima de anomalías parenquimatosas en el cerebro y la médula espinal incluyendo tumores, lesiones desmielinizantes, infecciones, lesiones vasculares como el ictus, anomalías del desarrollo, y las lesiones traumáticas. Se trata de una técnica no invasiva, inocua en la aplicación clínica, y no implica exposición a la radiación ionizante.

En los últimos años se han desarrollado técnicas avanzadas como la perfusión RM que aportan información fisiológica adicional no disponible con la RM estándar. La técnica de DSC es la más utilizada para medir la perfusión cerebral con resonancia magnética. La perfusión T2 ha sido utilizada de forma exclusiva en neurorradiologia debido a la peculiaridad de la BBB, que no está presente en otros órganos. La BBB está formada por células endoteliales que recubren los capilares cerebrales y están sellados por

uniones estrechas (tight junctions), que son únicos en la microvasculatura cerebral y hacen que los medios de contraste permanezcan en el compartimento intravascular. El modelo utilizado para la cuantificación de la perfusión T2 se basa precisamente en este principio de la cinética de trazadores no difusibles y la suposición de que el material de contraste se mantiene dentro del vaso en presencia de una barrera hematoencefálica intacta (BHE). Este confinamiento en el espacio vascular causa que el efecto dominante sea el de susceptibilidad magnética. Así pues, el agente paramagnético se comporta como una serie de cilindros magnetizados que producen una influencia en el tejido circundante alterando los campos magnéticos locales, en cuyo fundamento está basado el principio de la perfusión T2. (82) Algunas de sus ventajas son que el software de postproceso está ampliamente disponible y es relativamente sencillo de usar y que el CBV relativo obtenido de DSC es el método más ampliamente utilizado y robusto para evaluar tumores cerebrales. Por otro lado esta técnica presenta algunas desventajas como la dificultad en la determinación de la cuantificación absoluta, los artefactos de susceptibilidad (es decir, producto de la sangre, la calcificación, metal, aire, y hueso), y la dependencia del usuario. (4) Otras de las potenciales dificultades a las que tiene que hacer frente la perfusión T2 se debe a la disrupción de la BHE. La perfusión T2 asume que el contraste permanece en el interior del vaso pero en el momento que existe ruptura de la BBB y el contraste sale al espacio extracelular, la relación lineal asumida entre la concentración del contraste y la caída de señal no es válida.

(82) Además, con el aumento de la permeabilidad de la BHE aparecen los efectos de fuga tanto T1 como T2 o T2* como causa de error en la cuantificación de los parámetros de perfusión. El efecto de fuga T1 radica en que los contrastes de gadolinio tienen efecto T1 adicional al efecto T2*. El efecto no esperado T1 se debe a la extravasación del material de contraste y se identifica como un incremento de señal por encima de la línea basal tras la caída inicial en la curva de perfusión. El algoritmo interpreta el área por encima de la línea de base como volumen sanguíneo negativo y se sustrae del área por debajo de la línea de base causada por la señal T2* lo que causa una infraestimación del VSC. Respecto a la fuga T2, se producirá una caída de señal de forma adicional y posterior a la ocasionada por la llegada al parénquima cerebral del bolo de contraste, existiendo en este caso una sobrestimación de los valores de VSC. (82) Por último, otra de las grandes limitaciones de la técnica es la estimación fiable de la permeabilidad. En determinados tejidos, tales como tumores malignos, donde se produce una considerable fuga de contraste de los vasos hacia el espacio extracelular extravascular es teóricamente posible calcular las estimaciones de la permeabilidad endotelial del lecho vascular utilizando datos de perfusión T2. Sin embargo, las características del cambio de la señal y los problemas subyacentes del efecto de la contaminación por efecto T1 y T2 hacen este tipo de análisis relativamente poco fiables. En consecuencia, ha habido un creciente interés en el uso de la técnica de perfusión DCE en que la aplicación de este tipo de enfoque analítico es más fiable.(83)

El estudio de perfusión dinámico con contraste es el método más comúnmente utilizado para la evaluación estudios de imagen de la microcirculación en la mayoría de los tejidos. (5) En el cerebro apenas se ha usado hasta hace relativamente poco tiempo, probablemente debido a la amplia implantación, disponibilidad y la facilidad en procesamiento de la técnica de perfusión T2. Por ello su uso representa una novedad en el cerebro y médula ósea, donde está siendo cada vez mas utilizado en investigación y gradualmente se va introduciendo en la práctica clínica habitual. Cada vez hay más oportunidades para el uso de la RM perfusión potenciada en T1 con contraste dinámico para caracterizar la biología del tumor y la respuesta al tratamiento, utilizando las modernas secuencias rápidas que pueden proporcionar una buena resolución temporal y espacial combinada con buena cobertura de órganos. (84) Su principio consiste en inyectar un contraste durante la adquisición dinámica de imágenes y adquirir la señal de realce de los tejidos. La cinética del realce depende de manera importante de los parámetros circulatorios, del modo de inyección (velocidad de inyección, la dosis, la concentración de agente de contraste) y del tipo de agente de contraste. (5) .

Una vez obtenidas las imágenes se pueden aplicar diferentes formas de analisis para obtener datos cualitativos (visuales), semi-cuantitativos o cuantitativos (se obtienen parámetros fisiológicos microvasculares)

La cuantificación de la RM ha demostrado ser una importante herramienta para caracterizar la biología del tejido. Esta cuantificación

representa un cambio de modelo, una nueva forma de manejo de las imágenes de RM. (85) En los estudios cualitativos, la RM recoge las imágenes que serán evaluadas por un radiólogo experimentado. En estos casos la cinética del realce en las imágenes pueden ser interpretada sobre las imágenes nativas o utilizando la sustracción, como sucede en la RM mamaria, centrándose principalmente en la velocidad de la fase de llenado (wash-in), la intensidad del pico después esta fase de llenado (peak), y la cinética siguientes a esta primera fase (disminución rápida o de lavado, meseta o lento continuación de acumulación). (86) Este modo de análisis es muy simple y rápido. Es eficaz para la caracterización de determinados tumores, en combinación con criterios morfológicos. Sin embargo, y debido a que no aporta resultados numéricos, es difícil comparar entre diferentes pacientes o medir la eficacia del tratamiento en el mismo individuo. (5).

En un análisis semi-cuantitativo, pueden analizarse varios parámetros descriptivos a partir de la curva tiempo-intensidad, como la pendiente de llenado (wash-in), el realce máximo (peak) que puede ser expresado en %, el tiempo al pico o el área bajo la curva (ABC). Este análisis es también sencillo, aunque pueden verse afectados por la inestabilidad de las curvas debido a la presencia de ruido y artefactos de movimiento en las imágenes. Es especialmente útil cuando es posible utilizar una referencia interna (por ejemplo, cerebro o miometrio contralateral).(5).

En estudios cuantitativos, la RM se comporta como un instrumento de medición sofisticado, capaz de medir diversas propiedades de cada voxel

de tejido (19). Se aplican modelos matemáticos que tienen en cuenta la cinética de realce de la arteria que irriga la zona estudiada. Al tener en cuenta el suministro arterial, es posible obtener parámetros cuantitativos representativos que se pueden comparar de un paciente a otro, o con el mismo paciente entre dos estudios. El modelo de Tofts es actualmente el más utilizado y recomendado.(17, 18) A pesar de que no proporciona resultados que corresponden exactamente a una realidad fisiológica, los resultados son sólidos y hace posible que un centro, con idénticas condiciones de adquisición, sea capaz de obtener resultados reproducibles y similares. (5)

Los parámetros de RM perfusión DCE que hemos utilizado de forma consistente en todos los estudios que forman parte del proyecto son V_p y K^{trans} . Estos parámetros permiten una caracterización de la fisiología de la microvasculatura de los tejidos estudiados, permitiendo cuantificación de los resultados de forma objetiva y reproducible. Se han utilizado otros parámetros semicuantitativos o técnicas adicionales para poder llevar a cabo comparaciones con otros estudios publicados. Así en el estudio de perfusión de la médula ósea de fracturas vertebrales para diferenciar entre fracturas patológicas y osteoporóticas se tuvieron en cuenta varios parámetros semicuantitativos, como la pendiente de llenado (wash-in), el pico de realce máximo (peak) y el área bajo la curva (AUC). En este primer estudio los datos se registraron mediante la colocación de ROI que proporcionaba el valor medio de los parámetros de perfusión de la fractura vertebral. Se

evaluaron también las curvas de tiempo-intensidad para clasificar las fracturas en función del patrón de lavado.

En el estudio para clasificar los gliomas utilizando perfusión DCE además se calcularon mapas de ADC, con el objetivo de comparar ambas técnicas entre sí y con otros trabajos publicados en la literatura. En este caso se llevó a cabo un estudio volumétrico mediante generación manual de VOI que fueron analizados con histogramas, seleccionando los valores máximos en los parámetros de perfusión V_p y K_{trans} y mínimos en ADC.

Por último en el estudio para valorar la utilidad de la perfusión DCE como marcador no invasivo del estado de EGFRvIII también se realizó un análisis de histogramas de los VOI, utilizando los valores medios y los percentiles 75 y 90 de los parámetros de perfusión V_p y K_{trans} .

Se decidió incorporar el análisis de VOI mediante histogramas por su mayor reproducibilidad y objetividad que permite obtener alta fiabilidad en los datos independientemente de la experiencia del operador, como se expone más adelante.

En todos nuestros estudios se procedió a la normalización de los parámetros con respecto a tejido sano en médula ósea en el estudio de las fracturas y respecto a parénquima cerebral contralateral en los estudios de gliomas y glioblastomas. La motivación para utilizar valores relativos se fundamenta en que encontramos que había variaciones importantes en los parámetros medidos entre los pacientes en los tejidos estudiados tal vez

debido al ruido, variaciones idiosincrásicas fisiológicas en AIF o diferencias en el factor de escala de los registros. Por ejemplo, los valores V_p absolutos son muy sensibles a las variaciones de AIF. Asimismo, los valores de K^{trans} también se normalizaron para minimizar el efecto de ruido distribuido en ambos hemisferios o en cuerpos vertebrales respectivamente.

El análisis estadístico se realizó directamente en valores relativos. Sirva como ejemplo los registros aleatorios de ROI en sustancia blanca de la **figura 4.1**; Los valores absolutos de un ROI colocado al azar en el mapa normal de V_p en la sustancia blanca en el caso EGFR positivo fue 3,33 y el caso negativo fue 0,56. Y para K_{trans} era 0.019 min⁻¹ y 0.026 min⁻¹ para los casos positivos y negativos de EGFR, respectivamente. Esto demuestra que, o bien a causa de las variaciones en el AIF, en caso de V_p , o efecto de ruido, en K_{trans} , la variabilidad es real y por lo tanto la normalización permite encontrar un tejido de control intra-sujeto atenuando así esta limitación.

Por otro lado otra cuestión técnica que resulta a priori controvertida es la utilización de imanes de 1.5T y 3T indistintamente, en particular en el estudio de EGFR. Cabe la posibilidad de plantear la duda de que diferentes intensidades de campos magnéticos pueden producir variabilidad de resultados. En términos de efecto de la intensidad de campo en el análisis farmacocinético, y dada la concentración de Gd como una función del tiempo, el modelo bicompartimental representa cómo el agente de contraste se distribuye en el cerebro, y cómo esto depende de parámetros fisiológicos. Es decir, las variables representadas en el modelo de Tofts son en teoría

independiente del protocolo de adquisición de imágenes incluyendo la intensidad de campo. (19, 87). Por lo tanto, no sería razonable pensar que la intensidad del campo magnético pudiera tener un efecto sistemático importante sobre los parámetros farmacocinéticos medidos. Sin embargo con 3T podemos claramente obtener imágenes con una resolución temporal y espacial más alta en comparación con 1.5T. No obstante la valoración de estos parámetros queda fuera del objetivo de este trabajo.

En este estudio se presenta, como eje vertebrador, ejemplos de la utilidad y aplicaciones de la técnica de RM perfusión DCE en el campo de la Neurorradiología. La potencialidad y la polivalencia de los parámetros de perfusión V_p y K_{trans} queda patente en los resultados de los trabajos expuestos, demostrándose como la misma técnica es capaz de proporcionar información clínica rentable indistintamente tanto en cuerpos vertebrales como en parénquima cerebral. Esta técnica, a pesar de asociar inconvenientes, la mayoría desde el punto de vista técnico como pueden ser los mayores tiempos de adquisición o laborioso postproceso, también exhibe una serie de ventajas respecto a la perfusión DSC. Permite un enfoque distinto a la perfusión T2 en cuanto a la evaluación cuantitativa de la BHE y la permeabilidad microvascular. Este hecho favorece una valoración más completa de la angiogénesis y fisiología vascular del tumor cerebral logrando una estimación más precisa de volúmenes sanguíneos así como de cuantificación de la permeabilidad en la región del tumor. Por otro lado, se trata de una técnica que no resulta afectada por artefactos de susceptibilidad

magnética debido a presencia de estructuras óseas, lo cual es un gran factor limitante en la valoración de parénquima cerebral cercano a estructuras craneales e indudablemente en la valoración de lesiones en la columna vertebral.

A continuación se detalla un análisis pormenorizado y comparativo de los estudios que forman parte de esta tesis con respecto a la literatura existente. En todos ellos se ha logrado demostrar la superioridad de los parámetros de perfusión potenciada en T1 con respecto a otras técnicas utilizadas en la literatura

DIFERENCIACIÓN ENTRE FRACTURAS VERTEBRALES BENIGNAS Y MALIGNAS UTILIZANDO RM PERFUSIÓN POTENCIADA EN T1

El objetivo de este estudio fue el de evaluar diferentes parámetros de perfusión, cuantitativos y semicuantitativos, (K_{trans} , V_p , pendiente de lavado, pico de máximo realce y ABC) para valorar las diferencias entre las fracturas vertebrales benignas y malignas. Las fracturas fueron clasificadas en benignas/malignas según resultados de las biopsias. Las fracturas benignas fueron a su vez divididas en 2 subgrupos, fracturas agudas y crónicas, de acuerdo con la presencia de edema en la médula ósea en las secuencias STIR. Definimos las fracturas de un punto de vista de imagen y consideramos una fractura aguda, siempre y cuando hubiera edema de la médula, y crónica cuando ya no había edema de la médula. No utilizamos el criterio temporal (días) ya que a veces las fracturas eran clínicamente ocultas.

Se realizó un análisis cuantitativo y semicuantitativo basado en un modelo de intercambio de dos compartimentos que proporciona estimaciones de la perfusión y la permeabilidad. Nuestros resultados arrojaron diferencias

significativas entre las fracturas patológicas y osteoporóticas, entre fracturas agudas y crónicas, y también entre las fracturas vertebrales agudas y patológicas. De los cinco parámetros de perfusión estudiados, Ktrans destaca como el mejor discriminador entre fracturas vertebrales osteoporóticas benignas frente a las patológicas.

Todos los parámetros de perfusión fueron notablemente inferiores en las fracturas crónicas en comparación con fracturas agudas. Esto es probablemente debido a los cambios escleróticos / fibróticos y la alteración de la arquitectura trabecular en el cuerpo vertebral con fractura crónica, lo que llevó a una disminución de la vascularización (Vp) y la disminución de la permeabilidad (Ktrans). Un estudio previo demostró que la edad de una fractura influye notablemente en los parámetros de perfusión. (39) Nosotros obtuvimos unos resultados similares a su trabajo en el sentido que los parámetros de perfusión demostraron diferencias significativas ($p \leq 0.001$) entre fracturas vertebrales agudas y crónicas.

Se pueden distinguir una serie de etapas en el proceso de reparación de la fractura que representan una fase inflamatoria, una fase reparadora, y una fase de remodelación. (56) Durante la fase inflamatoria aguda se observa un aumento de la vascularización en el sitio de la fractura. Por lo tanto, una fractura aguda durante la fase inflamatoria y una fractura patológica pueden parecer similares en DCE, ya que ambas demostrarán un aumento en las características de perfusión. (32)

No obstante, nuestros resultados mostraron que Ktrans y Vp eran capaces de diferenciar entre fracturas benignas y patológicas agudas. Las fracturas patológicas demostraron parámetros de perfusión significativamente más altos (Vp, Ktrans, pendiente de lavado, pico de máximo realce y ABC) ($p < 0,01$ para cada parámetro) cuando se compararon con las fracturas benignas. También encontramos diferencias significativas ($p < 0,001$) en todos los parámetros (Vp, Ktrans, wash-in, peak y ABC), entre las fracturas benignas agudas crónicas. Vp y Ktrans también fueron capaces de discriminar entre las fracturas patológicas y las benignas agudas ($p < 0,01$). La pendiente de lavado fue en también fue significativa ($p = 0,02$). No se encontraron diferencias significativas con pico de máximo realce ($p = 0,21$) y el ABC ($p = 0,4$), en este último grupo.

Los valores de Vp y Ktrans fueron significativamente mayores en las regiones de mayor afectación en los mapas paramétricos en las fracturas malignas que en las fracturas benignas ($p < 0,01$). Una posible explicación para esto puede ser que, aunque la respuesta inflamatoria aguda a la fractura puede mostrar un aumento de la vascularización y la permeabilidad como parte del proceso de curación, un cuerpo vertebral con depósitos metastásicos tendrá alteraciones adicionales en la estructura microvascular. Estos nuevos y frágiles vasos, además de los cambios inflamatorios de curación de la fractura darán lugar a un aumento de volumen plasmático, así como de la permeabilidad vascular.

La discriminación entre fracturas benignas y malignas se ha basado por lo general en la evaluación de parámetros morfológicos como el tamaño, la demarcación de los márgenes, la participación de las estructuras adyacentes, la homogeneidad de la señal, y la medición de los tiempos de relajación. (32)

Las fracturas benignas crónicas pueden ser fácilmente identificadas por la normalidad de la intensidad de señal en la vértebra comprimida. No obstante es difícil diferenciar entre las fracturas por benignas agudas y patológicas en la RM convencional ya que los cambios de intensidad de señal son frecuentemente semejantes. (31)

Las técnicas avanzadas de RM, como la RM difusión se han utilizado en los últimos años para distinguir las fracturas vertebrales patológicas de las benignas. Desde que Baur et al publicaron que la imagen de RM difusión proporciona una excelente discriminación entre fracturas de compresión benignos y patológicas, varios estudios posteriores han demostrado resultados prometedores. (57) Sung et al llegaron a la conclusión de que la adición de estudios de difusión cualitativos y cuantitativos a un protocolo de RM estándar mejoró la precisión diagnóstica en la distinción entre las fracturas vertebrales benignas agudas y malignas de la columna vertebral en 3.0 T. (58)

Se han descrito varias técnicas cualitativas y cuantitativas para evaluar imágenes dinámicas con contraste en las fracturas de columna. En estudios anteriores utilizando análisis semicuantitativo de parámetros de perfusión DCE, los investigadores han publicado resultados contradictorios con

respecto al potencial de los parámetros de perfusión para la diferenciación de las fracturas vertebrales osteoporóticas benignas de fracturas vertebrales malignas. (39) Chen et al no demostraron diferencias significativas en el porcentaje del pico de realce de contraste, pendiente de realce, y los patrones de curva TIC entre las fracturas por compresión agudas benignas, lesiones vertebrales metastásicas, y las fracturas patológicas. (20)

Tokuda et al. demostraron diferencias significativas. Las fracturas patológicas presentaban mayor pico de realce, pendiente más inclinada y mayores valores de pendiente respecto a las en las fracturas osteoporóticas,. Sin embargo los patrones de curva TIC no pudieron distinguir entre las dos entidades. (32) Los resultados de estos estudios previos son contradictorios con respecto al potencial de los índices de perfusión semicuantitativos de distinguir entre fracturas vertebrales benignos de fracturas vertebrales malignas. Una gran limitación de los estudios anteriores es el uso de parámetros semicuantitativos y descriptivos, sin tomar en cuenta la función de entrada arterial (AIF). (39)

En nuestro estudio la mayoría de los casos demostraron patrones de curva variables siendo la más común la que representa una pendiente en rápido aumento (wash-in) durante un corto período de tiempo inicial seguida de una corta meseta y una fase de lavado lento. A diferencia de los estudios de Chen et al y Tokuda et al, no se encontró un patrón representativo de TIC para cada grupo de fracturas en nuestro estudio. En lugar de ello, hemos utilizado mapas paramétricos cuantitativos y semicuantitativos teniendo en cuenta la

AIF que, en nuestra opinión, representa un enfoque más reproducible y objetivo.

Geith et al demostraron que los parámetros de perfusión cuantitativos de volumen intersticial, volumen extracelular, y el flujo de extracción fueron significativamente mayores en áreas de alto flujo plasmático en las fracturas vertebrales osteoporóticas agudas en comparación con fracturas vertebrales malignas agudas. También observaron que los valores medios de K^{trans} , el flujo de plasma, y V_p fueron mayores en las zonas de mayor flujo de plasma en las fracturas malignas que en las fracturas osteoporóticas aunque no se detectaron diferencias significativas. (39) Nuestro análisis confirmó sus conclusiones de que los valores medios de los parámetros de perfusión DCE demostraron diferencias significativas entre las fracturas vertebrales benignas y patológicas. Además, también hemos demostrado que los parámetros cuantitativos de perfusión DCE K^{trans} y V_p , son superiores a los parámetros semicuantitativos para discriminar fracturas vertebrales benignas agudas de las patológicas. La capacidad de nuestro estudio para obtener resultados significativos, no obtenidos por Geith et al, puede ser debido al diseño del estudio y a la selección de pacientes. Mientras que todos nuestros pacientes tenían resultados histopatológicos obtenidos por biopsia, el diagnóstico en el estudio de Geith et al fue establecido por métodos de análisis no histopatológicos como seguimiento clínico, PET-CT y el seguimiento con RM que puede haber dado lugar a errores en el diagnóstico.

Existen varias posibles limitaciones en este estudio:

En primer lugar se han incluido un relativamente pequeño número de pacientes (21) y los ROIs fueron situados en regiones seleccionadas de las fracturas. Hemos seguido un método estándar de análisis de datos de perfusión mediante la selección de ROIs, que ha demostrado ser reproducible, aunque sigue siendo una técnica subjetiva dependiente del operador, asociando inevitablemente un factor de variabilidad interobservador e intraobservador. A pesar del hecho de que hemos incorporado a pacientes consecutivos que cumplían con los criterios de inclusión, se trata de un estudio retrospectivo y existe un riesgo de sesgo de selección. No se realizó una estratificación en función de la naturaleza de los tumores dentro del grupo de las fracturas patológicas aunque podría haber diferentes patrones de perfusión de los depósitos metastásicos responsables de las fracturas, esperando parámetros de perfusión elevados en la metástasis de tumores hipervasculares y viceversa. (59) Este estudio cuenta con una amplia franja de edad de los pacientes (46-84 años) y algunos autores han demostrado que el realce dinámico de contraste de la médula ósea puede estar fuertemente influenciado por la edad y el contenido de grasa. (32) Sin embargo, los pacientes de este estudio eran todos de mediana edad o adultos mayores, minimizando por tanto las variaciones relacionadas con la edad. A pesar de que la influencia del contenido de grasa no se tuvo en cuenta durante el análisis de la perfusión, debería ser insignificante porque, como es de sobra conocido, la fracción de grasa en las fracturas es mínima. (39) Algunos de los pacientes en este estudio tenían fracturas osteoporóticas benignas y como la

mayoría de los pacientes con fracturas osteoporóticas pueden ser diagnosticados mediante imágenes convencionales y la biopsia por lo tanto puede evitarse. Como aclaración, los pacientes con fracturas benignas que se incluyeron en este estudio se habían sometido a una biopsia como parte de un procedimiento de cifoplastia. Por otro lado, se analizaron múltiples fracturas por compresión de un mismo paciente como lesiones independientes asumiendo que los factores sistémicos inherentes al paciente no fueran a sesgar los resultados.

RM PERFUSIÓN Y RM DIFUSIÓN EN LA CLASIFICACIÓN DE GLIOMAS

Este estudio fue diseñado para evaluar y comparar el uso del análisis de histograma de V_p y K^{trans} (obtenido de RM perfusión potenciada en T1) y ADC (obtenido de RM difusión) para mejorar la precisión diagnóstica en la distinción de gliomas de bajo y alto grado en tumores no tratados y de nuevo diagnóstico. Los parámetros del ADC y de perfusión se suelen analizar mediante la obtención de múltiples mediciones de pequeños ROI. Este método ha demostrado ser razonablemente reproducible, aunque sigue siendo una técnica subjetiva, dependiente del operador, inevitablemente asociado con variabilidad interobservador e intraobservador. Considerando la heterogeneidad del tejido, se ha sugerido que el error de muestreo que se produce con el uso de regiones de interés contribuye sustancialmente a la falta de fiabilidad de mapas de ADC para diferenciar entre los grados

tumorales. (41) Sin embargo, el análisis del histograma de los parámetros de imagen es un método más reproducible y objetivo que permite a operadores sin experiencia obtener datos fiables. En estudios previos, el análisis de histogramas ha demostrado ser comparable, si no superior, a los métodos actuales basados en ROI para calcular el valor máximo de la volumen de sangre cerebral relativo (VSCr Vmax). (60) Nuestra hipótesis implica que mediante la selección de la totalidad del volumen del tumor, se podría medir con más precisión la perfusión y la difusión dentro del tumor y usar la función de histograma para analizar más objetivamente los resultados tumorales. De esta manera se realizó un análisis de histogramas de Vp, Ktrans y ADC y se calculó la media y los valores máximos de Vp y Trans, y la media y los valores mínimos de ADC.

Los parámetros de perfusión son potencialmente útiles en la caracterización de los gliomas, ya que tienden a correlacionarse con el nivel de la neovascularización y, consecuentemente, el grado de malignidad. (43, 44, 61, 62) Teniendo en cuenta que el grado de malignidad de un tumor puede ser representado por el área de mayor malignidad histológica, es razonable esperar que los parámetros de perfusión tengan potencial para categorizar la malignidad del tumor. (63) Estudios anteriores han caracterizado con éxito los gliomas de alto y bajo grado utilizando parámetros de perfusión. (44, 64) Algunos de estos estudios utilizaron la RM potenciada en T2* (DSC). Sin embargo, esta técnica tiene algunas limitaciones: Es difícil obtener mediciones cuantitativas absolutas de RM

DSC, ya que no existe una relación lineal entre la concentración de medio de contraste y los cambios de señal. (24) La RM DSC es susceptible a artefactos de grandes vasos o huesos. (4) Además, no tiene en cuenta la fuga de contraste a través de la barrera hematoencefálica. (24, 65)

La perfusión de RM con DCE sin embargo describe los vasos cerebrales de una manera diferente que permite la evaluación cuantitativa de la BHE y la permeabilidad vascular utilizando el modelo compartimental. (4) La estimación del volumen de sangre del tumor y la permeabilidad obtenida con técnicas dinámicas como MR DCE o CT de perfusión, se han correlacionado con el grado del tumor, el pronóstico y la respuesta al tratamiento. (61, 66) Estos parámetros de imagen han demostrado ser marcadores de la angiogénesis en gliomas. (23)

Hilario et al. demostraron diferencias significativas ($p < 0,001$) en los valores de CBV entre gliomas de alto y bajo grado, entre los grados II y IV, y también entre los grados III y IV utilizando perfusión potenciada en T2*. No pudieron mostrar diferencias significativas, sin embargo, entre gliomas de grado II y grado III. (44) Jung et al realizaron un análisis de histograma de la variables de perfusión DCE Vp, Ktrans y Ve de una muestra ligeramente más pequeña que nosotros ($n = 28$), que demostró que Ktrans fue el parámetro farmacocinético más significativo para la clasificación de gliomas. (64) Nosotros postulamos que los gliomas de alto grado presentarían significativamente mayor vascularización y permeabilidad que los gliomas de bajo grado. En nuestro estudio, todos los parámetros de perfusión calculados

($V_{p_{max}}$, $V_{p_{media}}$, K_{max}^{trans} y K_{media}^{trans}) demostraron ser buenos biomarcadores para distinguir entre gliomas de alto grado y bajo grado ($p < 0,001$). En contraste con Jung et al (64), encontramos que V_p media fue el mejor discriminador de grado glioma en la mayoría de las comparaciones (grado II vs. grado III, grado II vs. grado IV, y alto grado vs. bajo grado). V_p max era sin embargo el mejor parámetro para diferenciar entre los grados III y IV, con un valor de corte de 3,52 demostrando una alta sensibilidad (88%) y especificidad (80%). La razón de esta diferencia en los resultados puede ser debido al hecho de que nuestro conjunto de datos incluye un mayor número de pacientes (63 pacientes vs 28 pacientes en el estudio de Jung et al). Sería útil verificar estos hallazgos con un análisis más detallado de cohortes más grandes.

Las secuencias en difusión DWI han demostrado ser un método no invasivo útil para evaluar la celularidad de los tumores. Los mapas de ADC ilustran la reducción de la movilidad de las moléculas de agua debido a la alta celularidad, La disminución en los valores de CDA sugieren tumor más celular y por tanto de grado más alto. (44, 61)

En nuestro estudio, la media de CDA demostró diferencias estadísticamente significativas sólo entre los gliomas de bajo grado y de alto grado, mientras que ADCmin resultó ser un biomarcador útil para distinguir entre todos los grados, con alta sensibilidad y especificidad para todas las comparaciones. La razón de esto puede ser que los resultados se analizaron la

totalidad del volumen del tumor, incluyendo quística y áreas necróticas. Las áreas quísticas y necróticas podrían influir en las mediciones de CDA, ya que se presentan con frecuencia en los gliomas de alto grado y, por tanto, aumentan los valores de CDA. (41) Las áreas necróticas muestran baja intensidad en las imágenes de RM potenciadas en difusión y alta intensidad en los mapas ADC, ya que la necrosis se asocia con baja celularidad. Algunos estudios han demostrado una alta correlación entre el grado de necrosis tumoral en la patología y los valores de ADC de los ROI. (41)

Lee et al. consideraron que la necrosis podría ser posiblemente un factor de confusión para la clasificación de gliomas basado en mapas de ADC ya que los valores de ADC medios de todo el tumor, incluyendo áreas quísticas y necróticas son más altos que los de las lesiones tumorales activos. (41) En su estudio demostraron que la exclusión de las partes quísticas y necróticas del ROI mejoró la diferenciación entre los gliomas de bajo y de alto grado. (41)

Los resultados obtenidos en nuestro análisis de histogramas de los valores medios de ADC están de acuerdo con los resultados publicados anteriormente. Nuestro análisis de histograma de los valores mínimos de ADC, sin embargo, mostró diferencias altamente significativas entre todos los grados de gliomas.

El estudio de RM perfusión y RM difusión en la clasificación de gliomas tiene varias limitaciones potenciales. En primer lugar, algunos de los tumores incluidos en nuestro estudio presentaban márgenes mal definidos que hacían más difícil distinguir tejido tumoral del parénquima sano y así delimitar correctamente el contorno del tumor. Aunque este problema podría conducir a errores en la reproducibilidad, el VOI incluye la totalidad del tumor y el análisis mediante histograma permite mostrar la escala completa de valores con el fin de obtener los valores de voxel fiables. En segundo lugar, un mal diagnóstico patológico debido a un error de muestreo, aunque poco probable, es posible debido a la heterogeneidad de las muestras en las que varias poblaciones de células pueden coexistir; tal heterogeneidad es típica en los tumores de alto grado. En el grupo de bajo grado, se incluyó un grupo heterogéneo de tumores con diferentes histologías, que presentó con diferentes patrones de perfusión. Esto puede haber afectado los resultados generales, ya que se ha demostrado que los oligodendrogliomas pueden tener valores de parámetros de perfusión elevados(67). Sin embargo, en nuestro estudio, posiblemente debido al número relativamente pequeño de los tumores oligodendrogliales en la muestra, estos tumores no mostraron un aumento significativo de los parámetros de perfusión, por lo que no podrían haber sesgado los resultados en el grupo de bajo grado. Además, los tamaños de muestra para el bajo grado y grupos de glioma de alto grado fueron un tanto desigual, con un mayor número de pacientes en el grupo de alto grado. Sin embargo, esta circunstancia no se pudo evitar, porque los gliomas de alto

grado son más habituales que los gliomas de bajo grado en la población general, y se llevó a cabo la inclusión de pacientes consecutivos en el estudio.

RM PERFUSIÓN POTENCIADA EN T1 COMO MARCADOR NO INVASIVO DEL ESTADO DE EGFRvIII

Hemos demostrado que las medidas de perfusión y la permeabilidad, tal como se determina por los parámetros del histograma rVP y rK^{trans}, respectivamente, fueron mayores en glioblastomas EGFRvIII-positivos que en glioblastomas EGFRvIII-negativos. rVP_{mean}, rVP_{90%tile} y rVP_{75%tile} fueron mejores predictores que rK^{trans}_{mean}, rK^{trans}_{90%tile} and rK^{trans}_{75%tile}, con valores de $p \leq 0.004$. Utilizando el análisis ROC, un valor umbral para VP_{90%tile} > 9.50 proporcionó una especificidad del 89,7% y una sensibilidad del 62,5% para predecir el estado EGFRvIII positivos. Estos resultados sugieren que los parámetros de perfusión DCE pueden ser utilizados como biomarcadores de imagen útiles para realizar el seguimiento en pacientes con tumores EGFRvIII positivos u otros tumores con parámetros anormales pretratamiento. Postulamos que esta caracterización radiogenómica puede ser particularmente relevante en pacientes sometidos a tratamientos dirigidos de forma selectiva, específicos para mutaciones, donde los cambios en la perfusión y la permeabilidad se podrían utilizar para evaluar de forma repetitiva y no invasiva la eficacia del tratamiento sin necesidad de biopsias.

La alteración de EGFR se encuentra entre las mutaciones de oncogenes frecuentes en glioblastomas primarios (40-70%). (68-70) Además de promover el crecimiento celular y la proliferación, EGFRvIII acelera la angiogénesis tumoral y la inducción de factores pro-angiogénicos, incluyendo factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), la interleucina 18 (IL-18), y angiopoyetina-like-4 en la señal extracelular regulada por quinasa (ERK) y las vías de c-Myc, que confieren un fenotipo más heterogéneo y agresivo.(71-73) (74) Estos aumentos en la actividad angiogénica en pacientes EGFRvIII pueden manifestarse en perfusión DCE como el aumento de Vp, que es una medida del volumen de plasma sanguíneo del tumor por unidad de volumen de tejido, y como un aumento de Ktrans, la transferencia de volumen constante entre el plasma sanguíneo y el extravascular espacio extracelular.

Debido a su secuencia proteínica única y expresión específica en tumores, EGFRvIII es una diana atractiva para las terapias selectivas. Varios pequeños inhibidores de tirosina quinasa moleculares con afinidad por el receptor EGFR están disponibles en el mercado y en desarrollo en ensayos clínicos.(75). Una vacuna para el glioblastoma basada en una secuencia peptídica única de EGFRvIII es actualmente objeto de investigación en un ensayo clínico de fase III. (76) La aplicación efectiva de estas novedosas terapias dirigidas requerirá el desarrollo paralelo de la tecnología de aplicaciones de imagen dirigida, como la RM perfusión DCE que puede ser utilizada específicamente para mutaciones particulares.

Se ha demostrado que la perfusión en la RM se correlaciona con el grado de glioma, pronóstico y respuesta al tratamiento. (61, 63, 66, 77, 78) Los parámetros de perfusión pueden ser útiles como marcadores de formación de imágenes de atenuación vascular y angiogénesis en los gliomas. (23) El aumento de volumen relativo de sangre del tumor mostrada con RM perfusión DSC se ha asociado con la amplificación de EGFR y la mutación EGFRvIII. (21, 54) Sin embargo, la técnica T2 * puede resultar inadecuada en zonas con fugas de contraste a través de una barrera hematoencefálica anormal, o en áreas con fuerte artefacto de susceptibilidad debido a la sangre, los vasos y la interfase hueso- aire, como ocurre con las estructuras cercanas a la base del cráneo. (24, 65) La RM perfusión DCE ofrece múltiples potenciales ventajas (4), la más importante de las cuales es la mayor precisión en la cuantificación de la perfusión y la permeabilidad mediante una mayor resolución espacial, estudios de imagen de estado estacionario y modelización compartimental avanzada. (4, 24, 55) También abogamos por el uso del análisis de histograma de todo el VOI del tumor, lo que debería permitir mediciones más objetivas y reproducibles y menos usuario-dependientes que los obtenidos con los métodos habituales basados en la ROI. (54, 60)

Hay algunas limitaciones potenciales para el presente estudio. En primer lugar, se trataba de un estudio retrospectivo que incluyó a pacientes con glioblastoma con el estado EGFRvIII determinado por RT-PCR. La secuenciación del exoma entero no estaba disponible para estos pacientes, por

lo que no tuvimos en cuenta otras mutaciones o amplificaciones de EGFR que también pueden correlacionarse con los cambios en RM-perfusion. La frecuencia observada de EGFRvIII mutante, sin embargo, era coherente con la frecuencia publicada en la literatura. (21, 80) En segundo lugar, dada la naturaleza retrospectiva de este estudio, una limitación inherente es la ausencia de localización estereotáxica en casos de biopsia o resección subtotal. El error de muestreo de tejido puede confundir la evaluación del estado de EGFRvIII, es decir, submuestreo inferior de áreas metabólicamente activas en los tumores heterogéneos pueden dar lugar a correlaciones erróneas, por ejemplo, los falsos negativos. En tercer lugar, los VOI se delinearon manualmente alrededor del realce tumoral y luego fueron transferidos a los mapas de perfusión DCE, lo que puede haber introducido sesgo y variabilidad. Por ejemplo se esperaría subjetividad en términos de exclusión de los vasos dentro de las lesiones. Para tener en cuenta esto, los VOI fueron inspeccionados en cada caso y se ajustaron para que coincidieran con el realce del tumor. Para reducir la variabilidad del operador, decidimos llevar a cabo todos estos pasos por un solo usuario experimentado entrenado en el uso del software de análisis de RM DCE. Otros grupos han abogado por la segmentación semi-automatizada y co-registro. Sin embargo, la validez y reproducibilidad inter-institucional de los resultados obtenidos con sus propias herramientas, que fueron desarrollados en la propia institución, no han sido comprobadas. (81) Creemos que la experiencia de un usuario especializado en el uso del software disponible para el análisis de RM DCE

se adapta mejor a los conocimientos disponibles en la mayoría de las instituciones y amplía la aplicabilidad de nuestros resultados. Un doble evaluador o enfoque evaluador de consenso múltiple también podría haber sido una manera óptima para evaluar la colocación uniforme de ROI.

CONCLUSIONES

El epílogo de esta memoria lo componen las conclusiones elaboradas de acuerdo a los resultados obtenidos en los artículos que se presentan, ajustándose a los objetivos dispuestos en las hipótesis iniciales.

1.- La evaluación cuantitativa de la perfusión DCE se puede utilizar como un indicador de análisis no invasivo para distinguir entre las fracturas vertebrales benignas y patológicas, benignas agudas y benignas crónicas y lo más importante patológicas y benignas agudas que son las que representan el mayor reto diagnóstico.

El valor de la RM DCE en la diferenciación de la naturaleza de las fracturas tiene posibles implicaciones clínicas.

La adición de mapas de perfusión DCE a las secuencias estándar de RM puede mejorar la precisión diagnóstica y puede optimizar significativamente los resultados de atención al paciente.

2.- Los resultados de nuestro estudio demuestran que el análisis cuantitativo de histograma de los parámetros de perfusión potenciados en T1 Vp y Ktrans, así como de los valores de ADC de estudios de difusión, puede ser útil para la evaluación no invasiva del grado histológico de glioma.

Aunque todas las mediciones de nuestro estudio fueron predictores significativos del grado glioma, los parámetros de perfusión potenciados en

T1, en general, y la mediaVp, en particular, destacaron como los mejores predictores.

Combinando los parámetros de perfusión T1 Vp y Ktrans con ADC potencialmente podría mejorar la precisión diagnóstica y tener un impacto en el resultado clínico.

3.- Los glioblastomas que expresan EGFRvIII demuestran una mayor permeabilidad vascular y valores de perfusión mas elevados que los glioblastomas EGFRvIII negativos.

La evaluación cuantitativa de los parámetros de perfusión potenciada en T1 puede ser útil como una herramienta no invasiva para correlacionar la expresión de EGFRvIII y la neoangiogénesis tumoral.

Esto puede tener implicaciones para seguimiento de la respuesta a las terapias selectivas dirigidas contra EGFRvIII.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ai T, Morelli JN, Hu X, Hao D, Goerner FL, Ager B, et al. A historical overview of magnetic resonance imaging, focusing on technological innovations. *Invest Radiol*. 2012;47(12):725-41.
2. Mangrum W, Christianson K, Duncan S, Hoang P. *Duke Review of MRI Principles*: Elsevier/Mosby; 2012.
3. Cha S, Knopp EA, Johnson G, Wetzel SG, Litt AW, Zagzag D. Intracranial mass lesions: dynamic contrast-enhanced susceptibility-weighted echo-planar perfusion MR imaging. *Radiology*. 2002;223(1):11-29.
4. Essig M, Shiroishi MS, Nguyen TB, Saake M, Provenzale JM, Enterline D, et al. Perfusion MRI: the five most frequently asked technical questions. *AJR Am J Roentgenol*. 2013;200(1):24-34.
5. Cuenod CA, Balvay D. Perfusion and vascular permeability: basic concepts and measurement in DCE-CT and DCE-MRI. *Diagnostic and interventional imaging*. 2013;94(12):1187-204.
6. Padhani AR, Hayes C, Assersohn L, Powles T, Makris A, Suckling J, et al. Prediction of Clinicopathologic Response of Breast Cancer to Primary Chemotherapy at Contrast-enhanced MR Imaging: Initial Clinical Results. *Radiology*. 2006;239(2):361-74.
7. Jain RK, Duda DG, Willett CG, Sahani DV, Zhu AX, Loeffler JS, et al. Biomarkers of response and resistance to antiangiogenic therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2009;6(6):327-38.
8. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*. 1971;285(21):1182-6.

9. Jahng GH, Li KL, Ostergaard L, Calamante F. Perfusion magnetic resonance imaging: a comprehensive update on principles and techniques. *Korean J Radiol.* 2014;15(5):554-77.
10. Jain R, Ellika S, Lehman NL, Scarpace L, Schultz LR, Rock JP, et al. Can permeability measurements add to blood volume measurements in differentiating tumefactive demyelinating lesions from high grade gliomas using perfusion CT? *J Neurooncol.* 2010;97(3):383-8.
11. Rosen BR, Belliveau JW, Vevea JM, Brady TJ. Perfusion imaging with NMR contrast agents. *Magn Reson Med.* 1990;14(2):249-65.
12. Weisskoff RM, Zuo CS, Boxerman JL, Rosen BR. Microscopic susceptibility variation and transverse relaxation: theory and experiment. *Magn Reson Med.* 1994;31(6):601-10.
13. Erlemann R, Reiser MF, Peters PE, Vasallo P, Nommensen B, Kusnierz-Glaz CR, et al. Musculoskeletal neoplasms: static and dynamic Gd-DTPA-enhanced MR imaging. *Radiology.* 1989;171(3):767-73.
14. Gordon Y, Partovi S, Muller-Eschner M, Amarteifio E, Bauerle T, Weber MA, et al. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging: fundamentals and application to the evaluation of the peripheral perfusion. *Cardiovascular diagnosis and therapy.* 2014;4(2):147-64.
15. Yankeelov TE, Gore JC. Dynamic Contrast Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Oncology: Theory, Data Acquisition, Analysis, and Examples. *Curr Med Imaging Rev.* 2009;3(2):91-107.

16. Brix G, Schreiber W, Hoffmann U, Guckel F, Hawighorst H, Knopp MV. [Methodological approaches to quantitative evaluation of microcirculation in tissues with dynamic magnetic resonance tomography]. *Radiologe*. 1997;37(6):470-80.
17. Tofts PS, Brix G, Buckley DL, Evelhoch JL, Henderson E, Knopp MV, et al. Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T(1)-weighted MRI of a diffusable tracer: standardized quantities and symbols. *J Magn Reson Imaging*. 1999;10(3):223-32.
18. Leach MO, Brindle KM, Evelhoch JL, Griffiths JR, Horsman MR, Jackson A, et al. The assessment of antiangiogenic and antivascular therapies in early-stage clinical trials using magnetic resonance imaging: issues and recommendations. *Br J Cancer*. 2005;92(9):1599-610.
19. Tofts PS. T1-weighted DCE imaging concepts: modelling, acquisition and analysis. *MAGNETOM Flash*. 2010:30–9.
20. Chen WT, Shih TT, Chen RC, Lo HY, Chou CT, Lee JM, et al. Blood perfusion of vertebral lesions evaluated with gadolinium-enhanced dynamic MRI: in comparison with compression fracture and metastasis. *J Magn Reson Imaging*. 2002;15(3):308-14.
21. Gupta A, Young RJ, Shah AD, Schweitzer AD, Graber JJ, Shi W, et al. Pretreatment Dynamic Susceptibility Contrast MRI Perfusion in Glioblastoma: Prediction of EGFR Gene Amplification. *Clin Neuroradiol*. 2014.

22. Barajas RF, Jr., Chang JS, Segal MR, Parsa AT, McDermott MW, Berger MS, et al. Differentiation of recurrent glioblastoma multiforme from radiation necrosis after external beam radiation therapy with dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging. *Radiology*. 2009;253(2):486-96.
23. Jain R, Poisson L, Narang J, Scarpace L, Rosenblum ML, Rempel S, et al. Correlation of perfusion parameters with genes related to angiogenesis regulation in glioblastoma: a feasibility study. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2012;33(7):1343-8.
24. Shin KE, Ahn KJ, Choi HS, Jung SL, Kim BS, Jeon SS, et al. DCE and DSC MR perfusion imaging in the differentiation of recurrent tumour from treatment-related changes in patients with glioma. *Clin Radiol*. 2014;69(6):e264-72.
25. Jung HS, Jee WH, McCauley TR, Ha KY, Choi KH. Discrimination of metastatic from acute osteoporotic compression spinal fractures with MR imaging. *Radiographics*. 2003;23(1):179-87.
26. Croarkin E. Osteopenia in the patient with cancer. *Phys Ther*. 1999;79(2):196-201.
27. Gold RI, Seeger LL, Bassett LW, Steckel RJ. An integrated approach to the evaluation of metastatic bone disease. *Radiol Clin North Am*. 1990;28(2):471-83.

28. Jacobsson H, Goransson H. Radiological detection of bone and bone marrow metastases. *Medical oncology and tumor pharmacotherapy*. 1991;8(4):253-60.
29. Yamaguchi T, Tamai K, Yamato M, Honma K, Ueda Y, Saotome K. Intertrabecular pattern of tumors metastatic to bone. *Cancer*. 1996;78(7):1388-94.
30. Biffar A, Sourbron S, Dietrich O, Schmidt G, Ingris M, Reiser MF, et al. Combined diffusion-weighted and dynamic contrast-enhanced imaging of patients with acute osteoporotic vertebral fractures. *Eur J Radiol*. 2010;76(3):298-303.
31. Verstraete KL, Van der Woude HJ, Hogendoorn PC, De-Deene Y, Kunnen M, Bloem JL. Dynamic contrast-enhanced MR imaging of musculoskeletal tumors: basic principles and clinical applications. *J Magn Reson Imaging*. 1996;6(2):311-21.
32. Tokuda O, Hayashi N, Taguchi K, Matsunaga N. Dynamic contrast-enhanced perfusion MR imaging of diseased vertebrae: analysis of three parameters and the distribution of the time-intensity curve patterns. *Skeletal radiology*. 2005;34(10):632-8.
33. Roodman GD. Mechanisms of bone lesions in multiple myeloma and lymphoma. *Cancer*. 1997;80(8 Suppl):1557-63.
34. Chu S, Karimi S, Peck KK, Yamada Y, Lis E, Lyo J, et al. Measurement of blood perfusion in spinal metastases with dynamic contrast-

enhanced magnetic resonance imaging: evaluation of tumor response to radiation therapy. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2013;38(22):E1418-24.

35. van der Woude HJ, Verstraete KL, Hogendoorn PC, Taminiau AH, Hermans J, Bloem JL. Musculoskeletal tumors: does fast dynamic contrast-enhanced subtraction MR imaging contribute to the characterization? *Radiology*. 1998;208(3):821-8.

36. Moulopoulos LA, Maris TG, Papanikolaou N, Panagi G, Vlahos L, Dimopoulos MA. Detection of malignant bone marrow involvement with dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Ann Oncol*. 2003;14(1):152-8.

37. Hawighorst H, Libicher M, Knopp MV, Moehler T, Kauffmann GW, Kaick G. Evaluation of angiogenesis and perfusion of bone marrow lesions: role of semiquantitative and quantitative dynamic MRI. *J Magn Reson Imaging*. 1999;10(3):286-94.

38. Stabler A, Baur A, Bartl R, Munker R, Lamerz R, Reiser MF. Contrast enhancement and quantitative signal analysis in MR imaging of multiple myeloma: assessment of focal and diffuse growth patterns in marrow correlated with biopsies and survival rates. *AJR Am J Roentgenol*. 1996;167(4):1029-36.

39. Geith T, Biffar A, Schmidt G, Sourbron S, Durr HR, Reiser M, et al. Quantitative analysis of acute benign and malignant vertebral body fractures using dynamic contrast-enhanced MRI. *AJR Am J Roentgenol*. 2013;200(6):W635-43.

40. Goodenberger ML, Jenkins RB. Genetics of adult glioma. *Cancer genetics*. 2012;205(12):613-21.
41. Lee J, Choi SH, Kim JH, Sohn CH, Lee S, Jeong J. Glioma grading using apparent diffusion coefficient map: application of histogram analysis based on automatic segmentation. *NMR Biomed*. 2014;27(9):1046-52.
42. Caulo M, Panara V, Tortora D, Mattei PA, Briganti C, Pravata E, et al. Data-driven Grading of Brain Gliomas: A Multiparametric MR Imaging Study. *Radiology*. 2014;272(2):494-503.
43. Law M, Yang S, Wang H, Babb JS, Johnson G, Cha S, et al. Glioma grading: sensitivity, specificity, and predictive values of perfusion MR imaging and proton MR spectroscopic imaging compared with conventional MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2003;24(10):1989-98.
44. Hilario A, Ramos A, Perez-Nunez A, Salvador E, Millan JM, Lagares A, et al. The added value of apparent diffusion coefficient to cerebral blood volume in the preoperative grading of diffuse gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2012;33(4):701-7.
45. Law M, Yang S, Babb JS, Knopp EA, Golfinos JG, Zagzag D, et al. Comparison of cerebral blood volume and vascular permeability from dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion MR imaging with glioma grade. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2004;25(5):746-55.
46. Ginsberg LE, Fuller GN, Hashmi M, Leeds NE, Schomer DF. The significance of lack of MR contrast enhancement of supratentorial brain

tumors in adults: histopathological evaluation of a series. *Surg Neurol*. 1998;49(4):436-40.

47. Knopp EA, Cha S, Johnson G, Mazumdar A, Golfinos JG, Zagzag D, et al. Glial neoplasms: dynamic contrast-enhanced T2*-weighted MR imaging. *Radiology*. 1999;211(3):791-8.

48. Hirai T, Murakami R, Nakamura H, Kitajima M, Fukuoka H, Sasao A, et al. Prognostic value of perfusion MR imaging of high-grade astrocytomas: long-term follow-up study. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008;29(8):1505-10.

49. Law M, Young R, Babb J, Pollack E, Johnson G. Histogram analysis versus region of interest analysis of dynamic susceptibility contrast perfusion MR imaging data in the grading of cerebral gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2007;28(4):761-6.

50. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005;352(10):987-96.

51. Huang PH, Xu AM, White FM. Oncogenic EGFR signaling networks in glioma. *Science signaling*. 2009;2(87):re6.

52. Mellinghoff IK, Wang MY, Vivanco I, Haas-Kogan DA, Zhu S, Dia EQ, et al. Molecular determinants of the response of glioblastomas to EGFR kinase inhibitors. *N Engl J Med*. 2005;353(19):2012-24.

53. Kastenhuber ER, Huse JT, Berman SH, Pedraza A, Zhang J, Suehara Y, et al. Quantitative assessment of intragenic receptor tyrosine

kinase deletions in primary glioblastomas: their prevalence and molecular correlates. *Acta Neuropathol.* 2014;127(5):747-59.

54. Tykocinski ES, Grant RA, Kapoor GS, Krejza J, Bohman LE, Gocke TA, et al. Use of magnetic perfusion-weighted imaging to determine epidermal growth factor receptor variant III expression in glioblastoma. *Neuro Oncol.* 2012;14(5):613-23.

55. Cao Y, Sundgren PC, Tsien CI, Chenevert TT, Junck L. Physiologic and metabolic magnetic resonance imaging in gliomas. *J Clin Oncol.* 2006;24(8):1228-35.

56. Cruses RL DJ. Healing of bone, tendon and ligament. . . In: Rockwood Jr CA, Green DP, eds. *Fractures*: Philadelphia: JB Lippincott, .; 1975. p. 97-8.

57. Baur A, Stabler A, Bruning R, Bartl R, Krodel A, Reiser M, et al. Diffusion-weighted MR imaging of bone marrow: differentiation of benign versus pathologic compression fractures. *Radiology.* 1998;207(2):349-56.

58. Sung JK, Jee WH, Jung JY, Choi M, Lee SY, Kim YH, et al. Differentiation of acute osteoporotic and malignant compression fractures of the spine: use of additive qualitative and quantitative axial diffusion-weighted MR imaging to conventional MR imaging at 3.0 T. *Radiology.* 2014;271(2):488-98.

59. Khadem NR, Karimi S, Peck KK, Yamada Y, Lis E, Lyo J, et al. Characterizing hypervascular and hypovascular metastases and normal bone

marrow of the spine using dynamic contrast-enhanced MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2012;33(11):2178-85.

60. Young R, Babb J, Law M, Pollack E, Johnson G. Comparison of region-of-interest analysis with three different histogram analysis methods in the determination of perfusion metrics in patients with brain gliomas. *J Magn Reson Imaging.* 2007;26(4):1053-63.

61. Aronen HJ, Gazit IE, Louis DN, Buchbinder BR, Pardo FS, Weisskoff RM, et al. Cerebral blood volume maps of gliomas: comparison with tumor grade and histologic findings. *Radiology.* 1994;191(1):41-51.

62. Rollin N, Guyotat J, Streichenberger N, Honnorat J, Tran Minh VA, Cotton F. Clinical relevance of diffusion and perfusion magnetic resonance imaging in assessing intra-axial brain tumors. *Neuroradiology.* 2006;48(3):150-9.

63. Wetzel SG, Cha S, Johnson G, Lee P, Law M, Kasow DL, et al. Relative cerebral blood volume measurements in intracranial mass lesions: interobserver and intraobserver reproducibility study. *Radiology.* 2002;224(3):797-803.

64. Jung SC, Yeom JA, Kim JH, Ryoo I, Kim SC, Shin H, et al. Glioma: Application of histogram analysis of pharmacokinetic parameters from T1-weighted dynamic contrast-enhanced MR imaging to tumor grading. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2014;35(6):1103-10.

65. Fatterpekar GM, Galheigo D, Narayana A, Johnson G, Knopp E. Treatment-Related Change Versus Tumor Recurrence in High-Grade

Gliomas: A Diagnostic Conundrum—Use of Dynamic Susceptibility Contrast-Enhanced (DSC) Perfusion MRI. *American Journal of Roentgenology*. 2012;198(1):19-26.

66. Law M, Oh S, Babb JS, Wang E, Inglese M, Zagzag D, et al. Low-grade gliomas: dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging--prediction of patient clinical response. *Radiology*. 2006;238(2):658-67.

67. Saito T, Yamasaki F, Kajiwaru Y, Abe N, Akiyama Y, Kakuda T, et al. Role of perfusion-weighted imaging at 3T in the histopathological differentiation between astrocytic and oligodendroglial tumors. *Eur J Radiol*. 2012;81(8):1863-9.

68. Brennan CW, Verhaak RG, McKenna A, Campos B, Nounshmeir H, Salama SR, et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell*. 2013;155(2):462-77.

69. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature*. 2008;455(7216):1061-8.

70. Heimberger AB, Hlatky R, Suki D, Yang D, Weinberg J, Gilbert M, et al. Prognostic effect of epidermal growth factor receptor and EGFRvIII in glioblastoma multiforme patients. *Clin Cancer Res*. 2005;11(4):1462-6.

71. Hirata A, Ogawa S, Kometani T, Kuwano T, Naito S, Kuwano M, et al. ZD1839 (Iressa) induces antiangiogenic effects through inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res*. 2002;62(9):2554-60.

72. Ali MM, Janic B, Babajani-Feremi A, Varma NR, Iskander AS, Anagli J, et al. Changes in vascular permeability and expression of different angiogenic factors following anti-angiogenic treatment in rat glioma. *PLoS One*. 2010;5(1):e8727.
73. Katanasaka Y, Kodera Y, Kitamura Y, Morimoto T, Tamura T, Koizumi F. Epidermal growth factor receptor variant type III markedly accelerates angiogenesis and tumor growth via inducing c-myc mediated angiopoietin-like 4 expression in malignant glioma. *Mol Cancer*. 2013;12:31.
74. Inda MM, Bonavia R, Mukasa A, Narita Y, Sah DW, Vandenberg S, et al. Tumor heterogeneity is an active process maintained by a mutant EGFR-induced cytokine circuit in glioblastoma. *Genes & development*. 2010;24(16):1731-45.
75. Thomas AA, Brennan CW, DeAngelis LM, Omuro AM. Emerging therapies for glioblastoma. *JAMA neurology*. 2014;71(11):1437-44.
76. Xu LW, Chow KK, Lim M. Current vaccine trials in glioblastoma: a review. 2014;2014:796856.
77. Mills SJ, Patankar TA, Haroon HA, Baleriaux D, Swindell R, Jackson A. Do cerebral blood volume and contrast transfer coefficient predict prognosis in human glioma? *AJNR Am J Neuroradiol*. 2006;27(4):853-8.
78. Ellika SK, Jain R, Patel SC, Scarpace L, Schultz LR, Rock JP, et al. Role of perfusion CT in glioma grading and comparison with conventional MR imaging features. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2007;28(10):1981-7.

79. Jain R, Gutierrez J, Narang J, Scarpace L, Schultz LR, Lemke N, et al. In vivo correlation of tumor blood volume and permeability with histologic and molecular angiogenic markers in gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2011;32(2):388-94.
80. Gan HK, Kaye AH, Luwor RB. The EGFRvIII variant in glioblastoma multiforme. *J Clin Neurosci*. 2009;16(6):748-54.
81. Jung SC, Choi SH, Yeom JA, Kim JH, Ryoo I, Kim SC, et al. Cerebral blood volume analysis in glioblastomas using dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion MRI: a comparison of manual and semiautomatic segmentation methods. *PLoS One*. 2013;8(8):e69323.
82. Guzman-de-Villoria JA, Fernandez-Garcia P, Mateos-Perez JM, Desco M. [Studying cerebral perfusion using magnetic susceptibility techniques: technique and applications]. *Radiologia (Roma)*. 2012;54(3):208-20.
83. O'Connor JP, Tofts PS, Miles KA, Parkes LM, Thompson G, Jackson A. Dynamic contrast-enhanced imaging techniques: CT and MRI. *Br J Radiol*. 2011;84 Spec No 2:S112-20.
84. Baert AL, Jackson A, Buckley DL, Parker GJM. *Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Oncology*: Springer Berlin Heidelberg; 2006.
85. Tofts P. *Quantitative MRI of the Brain: Measuring Changes Caused by Disease*: Wiley; 2005.

86. Schnall MD, Blume J, Bluemke DA, DeAngelis GA, DeBruhl N, Harms S, et al. Diagnostic Architectural and Dynamic Features at Breast MR Imaging: Multicenter Study. *Radiology*. 2006;238(1):42-53.
87. Jackson A, O'Connor JP, Parker GJ, Jayson GC. Imaging tumor vascular heterogeneity and angiogenesis using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Clin Cancer Res*. 2007;13(12):3449-59.

ANEXO 1: artículos publicados

Differentiating Benign From Malignant Vertebral Fractures Using T_1 -Weighted Dynamic Contrast-Enhanced MRI

Julio Arevalo-Perez, MD,^{1*} Kyung K. Peck, PhD,^{1,2} John K. Lyo, MD,¹
Andrei I. Holodny, MD,¹ Eric Lis, MD,¹ and Sasan Karimi, MD¹

Purpose: To differentiate pathologic from benign vertebral fractures, which can be challenging. We hypothesized that dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging (DCE-MRI) can aid in the noninvasive distinction between pathologic and benign fractures.

Materials and Methods: Consecutive patients with vertebral fractures who underwent DCE-MRI, biopsy, and kyphoplasty were reviewed. Forty-seven fractures were separated into pathologic and benign fractures. Benign fractures were in turn separated into acute and chronic fractures for further comparison. Regions of interest (ROIs) were placed over fractured vertebral bodies. Perfusion parameters: plasma volume (V_p), K^{trans} , wash-in slope, peak enhancement, and area under the curve (AUC) were measured and compared between the three different groups of fractures. A Mann-Whitney *U*-test was conducted to assess the difference between the groups.

Results: Pathologic fractures had significantly higher ($P < 0.01$) perfusion parameters (V_p , K^{trans} , wash-in slope, peak enhancement, and AUC) compared with benign fractures. We also found significant differences ($P < 0.001$) in all parameters between chronic and acute fractures. V_p and K^{trans} were able to differentiate between pathologic and acute fractures ($P < 0.01$). No significant differences were found with peak enhancement ($P = 0.21$) and AUC ($P = 0.4$) between pathologic and acute fractures.

Conclusion: Our data demonstrate that T_1 -weighted DCE-MRI has potential to differentiate between pathologic vs. benign, acute vs. chronic, and most important, benign acute vs. pathologic vertebral fractures.

J. MAGN. RESON. IMAGING 2015;00:000–000.

Vertebral Compression Fractures in the thoracic or lumbar spine are a problem commonly encountered in daily clinical practice, particularly in elderly patients. Osteoporosis is the most common cause of compression fractures in this age group.¹ However, the spine is also a frequent location of metastatic and primary neoplastic disease that may result in pathologic fractures. Therefore, differentiation between malignant from benign fractures due to osteoporosis can be challenging, especially among cancer patients, who are prone to developing both types. Vertebral fractures are a very common concern in this cohort of patients who may be subject to long-term use of steroids, chemotherapy, radiotherapy, and frequently present with poor nutrition in addition to advanced age, factors that

affect bone density.² Most metastatic tumors as well as primary neoplasms such as multiple myeloma are characterized by the presence of osteolytic lesions presenting with decreased bone density and osseous structural weakness. Besides certain treatment regimens, for instance, blocking sex hormones such as estrogen in breast cancer, can also affect bone mineral homeostasis.² All these circumstances put these patients at higher risk for vertebral fractures.

Magnetic resonance imaging (MRI) is a method for the detection and evaluation of bone-marrow pathologies to the point of becoming the imaging modality of choice for marrow metastatic disease.^{3–6} Typically, for the standard clinical assessment, a qualitative analysis based on T_1 -weighted spin-echo (SE) as well as short- T_1 inversion

View this article online at wileyonlinelibrary.com. DOI: 10.1002/jmri.24863

Received Oct 24, 2014, and in revised form Jan 16, 2015. Accepted for publication Jan 19, 2015.

*Address reprint requests to: J.A.-P., Department of Radiology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 1275 York Ave., New York, NY 10065.
E-mail: arevalj1@mskcc.org

From the ¹Department of Radiology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, New York, USA; and ²Department of Medical Physics, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, New York, USA

Dynamic Contrast-Enhanced Perfusion MRI and Diffusion-Weighted Imaging in Grading of Gliomas

Julio Arevalo-Perez, Kyung K. Peck, Robert J. Young, Andrei I. Holodny, Sasan Karimi, John K. Lyo

From the Department of Radiology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, New York (JA-P, KKP, RJY, AIH, SK, JKL); and Department of Medical Physics, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, New York (KKP)

ABSTRACT

PURPOSE: Accurate glioma grading is crucial for treatment planning and predicting prognosis. We performed a quantitative volumetric analysis to assess the diagnostic accuracy of histogram analysis of diffusion-weighted imaging (DWI) and dynamic contrast-enhanced (DCE) T1-weighted perfusion imaging in the preoperative evaluation of gliomas.

METHODS: Sixty-three consecutive patients with pathologically confirmed gliomas who underwent baseline DWI and DCE-MRI were enrolled. The patients were classified by histopathology according to tumor grade: 20 low-grade gliomas (grade II) and 43 high-grade gliomas (grades III and IV). Volumes-of-interest were calculated and transferred to DCE perfusion and apparent diffusion coefficient (ADC) maps. Histogram analysis was performed to determine mean and maximum values for V_p and K_{trans} , and mean and minimum values for ADC. Comparisons between high-grade and low-grade gliomas, and between grades II, III, and IV, were performed. A Mann-Whitney U test at a significance level of corrected $P \leq .01$ was used to assess differences.

RESULTS: All perfusion parameters could differentiate between high-grade and low-grade gliomas ($P < .001$) and between grades II and IV, grades II and III, and grades III and IV. Significant differences in minimum ADC were also found ($P < .01$). Mean ADC only differed significantly between high and low grades and grades II and IV ($P < .01$). There were no differences between grades II and III ($P = .1$) and grades III and IV ($P = .71$).

CONCLUSION: When derived from whole-tumor histogram analysis, DCE-MRI perfusion parameters performed better than ADC in noninvasively discriminating low- from high-grade gliomas.

Keywords: DCE-MRI, DW-MRI, glioma grading, histogram analysis.

Acceptance: Received February 5, 2015, and in revised form February 19, 2015. Accepted for publication February 22, 2015.

Correspondence: Address correspondence to Julio Arevalo-Perez, Department of Radiology, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, 1275 York Avenue, New York, NY 10065. E-mail: arevalj1@mskcc.org.

J Neuroimaging 2015;00:1-7.

DOI: 10.1111/jon.12239

Introduction

Gliomas account for nearly 30% of all brain and central nervous system tumors and 80% of all malignant brain tumors.¹ Diffuse gliomas show a histologically continuous spectrum with varying grades of mitosis, necrosis, cellularity, and microvascular proliferation. The WHO has classified them as low-grade (grade II) or high-grade tumors (grades III and IV) based on their histopathologic characteristics. Low-grade gliomas are malignant, well-differentiated tumors. They are associated with a better prognosis than the high-grade gliomas.² Accurate glioma grading is crucial for treatment planning and for determining the clinical outcome. Low-grade gliomas are usually subject to either strict follow-up or surgery.³ The treatment for high-grade gliomas is typically surgery, followed by concomitant radiation therapy and chemotherapy.³ Inaccurate grading represents a risk for the patient, since it could lead to an inappropriate therapy.³ Conventional histopathologic diagnosis has significant limitations: It is an invasive procedure that has inherent sampling error, especially for difficult-to-access tumors amenable only to stereotactic biopsy, and inability to evaluate residual tumor tissue after surgery.⁴

MRI is a useful noninvasive imaging method for tissue characterization and glioma grading. Conventional MRI offers information on mass effect, edema, enhancement, and necrosis that can be used to estimate tumor grade. However, it has

limitations for the grading of gliomas.⁵ In fact, prior studies have suggested that contrast enhancement alone is inadequate for tumor grading, since some low-grade gliomas may exhibit enhancement while some high-grade tumors may not.⁶⁻⁸ Enhancement may simply reflect disruption of the blood-brain barrier and increased vessel leakiness, rather than the neovascularity and angiogenesis that are the hallmarks of high-grade gliomas.

Advanced techniques such as perfusion and diffusion-weighted MRI can provide additional physiologic information unavailable from standard MRI.^{5,9} Determination of perfusion and diffusion parameters is currently undertaken in the research and clinical settings using software that relies upon accurate region of interest (ROI) analysis. However, ROI-based analysis has a critical limitation, since only averaged values are evaluated. In addition, it may result in inaccuracies due to tumor heterogeneity and inter-observer variability in selecting ROIs.¹⁰

Using the whole tumor as the volume-of-interest (VOI), we assessed the diagnostic accuracy of histogram analysis of the ADC and T1-weighted dynamic contrast-enhanced MRI perfusion parameters plasma volume (V_p) and permeability constant (K_{trans}) in the preoperative evaluation of gliomas. The purpose of the study was to evaluate the sensitivity and specificity of V_p , K_{trans} , and ADC for distinguishing low- from high-grade tumors noninvasively. We hypothesized that T1-weighted DCE-MRI

T1-Weighted Dynamic Contrast-Enhanced MRI as a Noninvasive Biomarker of Epidermal Growth Factor Receptor vIII Status

J. Arevalo-Perez, A.A. Thomas, T. Kaley, J. Lyo, K.K. Peck, A.I. Holodny, I.K. Mellinghoff, W. Shi, Z. Zhang, and R.J. Young



ABSTRACT

BACKGROUND AND PURPOSE: Epidermal growth factor receptor variant III is a common mutation in glioblastoma, found in approximately 25% of tumors. Epidermal growth factor receptor variant III may accelerate angiogenesis in malignant gliomas. We correlated T1-weighted dynamic contrast-enhanced MR imaging perfusion parameters with epidermal growth factor receptor variant III status.

MATERIALS AND METHODS: Eighty-two consecutive patients with glioblastoma and known epidermal growth factor receptor variant III status who had dynamic contrast-enhanced MR imaging before surgery were evaluated. Volumes of interest were drawn around the entire enhancing tumor on contrast T1-weighted images and then were transferred onto coregistered dynamic contrast-enhanced MR imaging perfusion maps. Histogram analysis with normalization was performed to determine the relative mean, 75th percentile, and 90th percentile values for plasma volume and contrast transfer coefficient. A Wilcoxon rank sum test was applied to assess the relationship between baseline perfusion parameters and positive epidermal growth factor receptor variant III status. The receiver operating characteristic method was used to select the cutoffs of the dynamic contrast-enhanced MR imaging perfusion parameters.

RESULTS: Increased relative plasma volume and increased relative contrast transfer coefficient parameters were both significantly associated with positive epidermal growth factor receptor variant III status. For epidermal growth factor receptor variant III–positive tumors, relative plasma volume mean was 9.3 and relative contrast transfer coefficient mean was 6.5; for epidermal growth factor receptor variant III–negative tumors, relative plasma volume mean was 3.6 and relative contrast transfer coefficient mean was 3.7 (relative plasma volume mean, $P < .001$, and relative contrast transfer coefficient mean, $P = .008$). The predictive powers of relative plasma volume histogram metrics outperformed those of the relative contrast transfer coefficient histogram metrics ($P < .004$).

CONCLUSIONS: Dynamic contrast-enhanced MR imaging shows greater perfusion and leakiness in epidermal growth factor receptor variant III–positive glioblastomas than in epidermal growth factor receptor variant III–negative glioblastomas, consistent with the known effect of epidermal growth factor receptor variant III on angiogenesis. Quantitative evaluation of dynamic contrast-enhanced MR imaging may be useful as a noninvasive tool for correlating epidermal growth factor receptor variant III expression and related tumor neoangiogenesis. This potential may have implications for monitoring response to epidermal growth factor receptor variant III–targeted therapies.

ABBREVIATIONS: DCE = dynamic contrast-enhanced; EGFR = epidermal growth factor receptor; K^{trans} = contrast transfer coefficient; rK^{trans} = relative K^{trans} ; ROC = receiver operating characteristic; rVP = relative plasma volume; 75%tile = 75th percentile; 90%tile = 90th percentile; VP = plasma volume

Glioblastoma is the most common and aggressive primary brain tumor. A highly malignant tumor, it is associated with a dismal median survival of only 14 months with standard ra-

diochemotherapy.¹ Glioblastoma is characterized by histologic heterogeneity with areas of active cellular proliferation and mitoses admixed with areas of necrosis. Large-scale genetic sequencing has revealed “driver” mutations in several common pathways that contribute to glioblastoma growth.² Among these, overactivation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) membrane ty-

Received March 6, 2015; accepted after revision April 30.

From the Departments of Radiology (J.A.-P., J.L., A.I.H., R.J.Y.), Neurology (A.A.T., T.K., I.K.M.), Medical Physics (K.K.P.), and Epidemiology and Biostatistics (W.S., Z.Z.), and the Brain Tumor Center (T.K., J.L., A.I.H., R.J.Y.), Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, New York.

Drs Julio Arevalo-Perez and Alissa A. Thomas contributed equally to the work as coauthors.

Julio Arevalo-Perez was supported by a grant from the Spanish foundation “Fundación Alfonso Martín Escudero.” The research of Wei Ji Shi and Zhigang Zhang was partly supported by the National Institutes of Health Core Grant P30 CA008748.

Paper previously presented as a scientific poster at: Annual Meeting of the American Society of Neuroradiology and the Foundation of the ASNR Symposium, April 25–30, 2015; Chicago, Illinois.

Please address correspondence to Robert J. Young, MD, Department of Radiology, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, 1275 York Ave, NY, New York 10065; e-mail: youngr@mskcc.org

Indicates open access to non-subscribers at www.ajnr.org

<http://dx.doi.org/10.3174/ajnr.A4484>

rosine kinase receptor pathway contributes to rapid aberrant cell proliferation and drives tumor growth and development.³⁻⁵ EGFR variant III (EGFRvIII) is the most common EGFR mutation in glioblastoma, occurring in 25%–35% of cases.⁶ EGFRvIII is characterized by deletion of exons 2–7 in the extracellular domain, rendering the receptor constitutively active. EGFRvIII status is determined either through exon sequencing or fluorescence in situ hybridization on tumor specimens.

The growing interest in EGFRvIII-specific therapy and other EGFR-targeted treatments for glioblastoma demands a better understanding of the correlation between molecular changes in tumors and neuroimaging features. Prior studies have demonstrated a correlation of T2* dynamic susceptibility contrast MR imaging perfusion with EGFR amplification and EGFRvIII mutations.^{5,7} The role of T1-weighted dynamic contrast-enhanced (DCE)–MR imaging in distinguishing molecular subpopulations of glioblastoma, however, has not been well-established, to our knowledge. DCE–MR imaging offers several technical advantages over DSC–MR imaging, including improved characterization of tumor vascularity through quantification of plasma volume (VP) and improved characterization of tumor leakiness through calculation of the contrast transfer coefficient (K^{trans}).⁸⁻¹⁰ The purpose of this study was to examine the relationship between T1-weighted DCE–MR imaging perfusion parameters and EGFRvIII status in patients with newly diagnosed glioblastoma. We hypothesized that patients with glioblastomas positive for EGFRvIII would demonstrate increased perfusion and leakiness at DCE–MR imaging compared with patients with EGFRvIII-negative glioblastomas.

MATERIALS AND METHODS

Protocol Approval and Informed Consent

The local institutional review board approved this retrospective study, which was compliant with the Health Insurance Portability and Accountability Act regulations. The requirement to obtain patient informed consent was waived.

Subjects

A hospital data base was queried from March 2011 through March 2014 to identify all patients meeting the following inclusion criteria: 1) pathologically confirmed glioblastoma diagnosis after biopsy or resection, 2) EGFRvIII status obtained from the biopsy or the resection specimen, and 3) baseline DCE–MR imaging perfusion scan with matching postcontrast axial T1-weighted images before surgery. EGFRvIII status was determined by reverse transcriptase polymerase chain reaction amplification of the corresponding exons followed by a single base extension at the site of the mutation. The single base extension product was detected by tandem mass spectrometry on a MassArray Spectrometer (Sequenom, San Diego, California) and reported in a binary manner as either positive or negative.

MR Imaging Protocol

MR imaging sequences were acquired with a 1.5T or 3T MR imaging scanner (Signa Excite, HDx, and Discovery 750; GE Healthcare, Milwaukee, Wisconsin) and a standard 8-channel head coil. Gadopentetate dimeglumine (Magnevist; Bayer HealthCare

Pharmaceuticals, Wayne, New Jersey) was power-injected via an intravenous catheter (18–21 ga) at doses standardized by patient body weight (0.2 mL/kg body weight, maximum 20 mL) at 2–3 mL/s. DCE–MR imaging of the brain was acquired as part of a standard clinical protocol with a 3D T1-weighted echo-spoiled gradient-echo sequence (TR, 4–5 ms; TE, 1–2 ms; section thickness, 5 mm; flip angle, 25°; FOV, 24 cm; matrix, 256 × 256; temporal resolution, 5–6 seconds. Ten phases were acquired preinjection followed by another 30 phases during the dynamic injection of intravenous contrast and then a 40-mL saline flush. Matching contrast T1-weighted (TR/TE, 600/8 ms; thickness, 5 mm) spin-echo images were obtained.

Imaging Analysis

DCE perfusion MR imaging raw data and T1-weighted images were transferred to an off-line workstation and processed by using commercially available software (nordicICE; (Nordic-NeuroLab, Bergen, Norway) by a trained radiologist who was blinded to the EGFRvIII status. Preprocessing steps included noise adjustments and semiautomated selection of the arterial input function. These steps allowed the operator to optimize the signal-to-noise ratio and the arterial input function by selecting an appropriate artery to characterize the input function curve and the concentration-time curve.¹¹ The arterial input function was calculated individually for every patient. Appropriate curves demonstrating an optimal relationship between the arterial input function and the concentration-time curve were selected. On the basis of the 2-compartment pharmacokinetic model proposed by Tofts et al,¹² the perfusion analysis method was applied to determine pharmacokinetic parameters, and the results were displayed as parametric maps. Volumes of interest were drawn on axial planes on contrast T1-weighted images, excluding intraslesional macrovessels, to not contaminate the measurements. VOIs were transferred to coregistered parametric maps to obtain the pharmacokinetic parameters VP and K^{trans} . Parameters were then normalized by using the ratio of tumor to normal white matter by placing ROIs in normal white matter of the contralateral hemisphere in a healthy-appearing area of brain parenchyma. The values were then binned into histograms, and the relative mean VP (rVP_{mean}), 90th percentile VP ($rVP_{90\%tile}$), and 75th percentile ($rVP_{75\%tile}$) ratios were recorded, along with the relative mean K^{trans} (rK^{trans}_{mean}), 90th percentile K^{trans} ($rK^{trans}_{90\%tile}$), and 75th percentile K^{trans} ($rK^{trans}_{75\%tile}$) ratios.

Statistical Analysis

Univariate analysis by using the Wilcoxon rank sum test was performed to examine the correlations between the rVP and rK^{trans} histogram parameters and EGFRvIII status. The cutoffs of the DCE–MR imaging perfusion parameters were selected by using the receiver operating characteristic (ROC) method. The areas under the ROC curves of the perfusion parameters were compared by using the Delong test. The statistical analysis was performed with the software SAS, Version 9.2 (SAS Institute, Cary, North Carolina) and R package ROCR and pROC (Version 3.1.2; R statistical computing software; <http://www.r-project.org/>). The significance level was set to $P = .05$.

RESULTS

Patient Characteristics

Eighty-two consecutive treatment-naïve patients with glioblastoma were included in the study. Twenty-four (29.3%) patients had positive EGFRvIII status, while 58 (70.7%) had negative EGFRvIII status. The median age was 66.7 years (range, 38–87) years; there were 21 women (25.6%) and 61 men (74.4%).

DCE-MR Imaging

As summarized in the Table, increased VP and K^{trans} were asso-

ciated with positive EGFRvIII status for all histogram metrics. rVP_{mean} , $rVP_{90\%tile}$, and $rVP_{75\%tile}$ were better predictors than rK^{trans}_{mean} , $rK^{trans}_{90\%tile}$, and $rK^{trans}_{75\%tile}$, with P values $\leq .004$. A representative case is shown in Fig 1. The areas under the ROC curves for the VP metrics were 0.818–0.833, while those for the K^{trans} metrics were 0.669–0.692. With ROC analysis, a threshold value for $VP_{90\%tile} > 9.50$ yielded a specificity of 89.7% and a sensitivity of 62.5% for predicting positive EGFRvIII status (Fig 2).

DISCUSSION

We demonstrated that perfusion and leakiness, as determined by rVP and rK^{trans} histogram parameters, respectively, were greater in EGFRvIII-positive glioblastomas than in EGFRvIII-negative glioblastomas. These results suggest that DCE-MR imaging parameters may be useful imaging biomarkers to follow in patients with EGFRvIII-positive tumors or other tumors with abnormal pretreatment parameters. We postulate that this radiogenomic characterization may be particularly relevant in patients undergoing active targeted, mutation-specific treatment, in which changes in perfusion and leakiness could be used to repetitively and non-invasively evaluate treatment efficacy in lieu of surgery.

Alteration of *EGFR* is among the frequent oncogene muta-

Analysis of the relationship between baseline perfusion parameters and EGFRvIII mutation status

Perfusion Parameter ^a	EGFRvIII Status (Median, Range)		P Value	AUC
	Negative (n = 58)	Positive (n = 24)		
rVP_{mean}	3.6 (1.5–18.1)	9.3 (2.9–29.3)	<.001	0.818
$rVP_{90\%tile}$	5.1 (1.6–19.1)	10.7 (4.1–30.2)	<.001	0.833
$rVP_{75\%tile}$	4.2 (1.6–18.4)	9.2 (3.5–28.1)	<.001	0.821
rK^{trans}_{mean}	3.7 (1.1–20.3)	6.5 (1.7–22.4)	.008	0.688
$rK^{trans}_{90\%tile}$	4.8 (1.5–22.6)	7.6 (2.1–31.8)	.02	0.669
$rK^{trans}_{75\%tile}$	4.2 (1.4–19.7)	6.8 (1.9–24.7)	.007	0.692

Note:—AUC indicates area under the curve in the ROC analysis.

^a All values are relative ratios normalized to tumor/contralateral normal tissue.

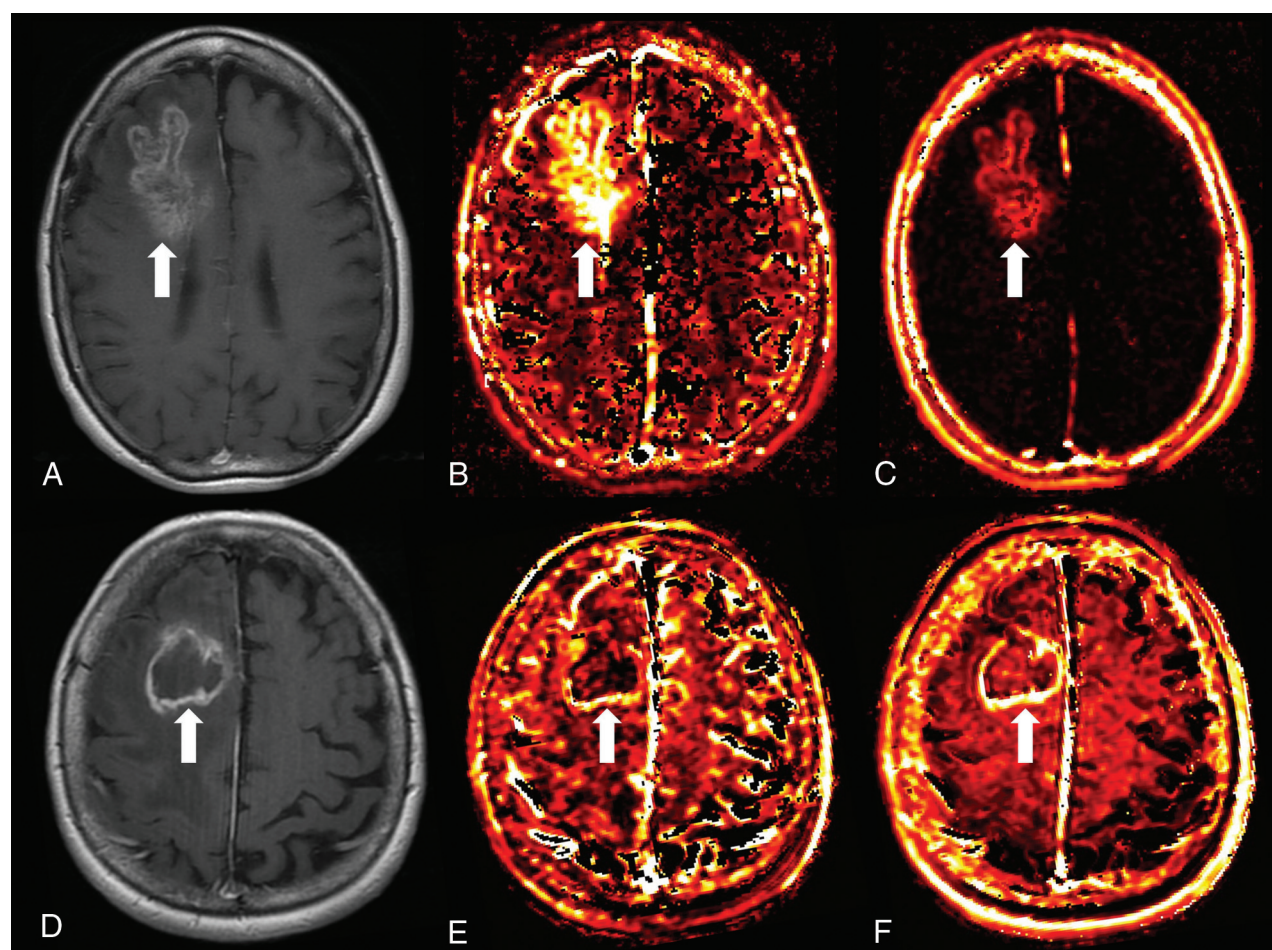
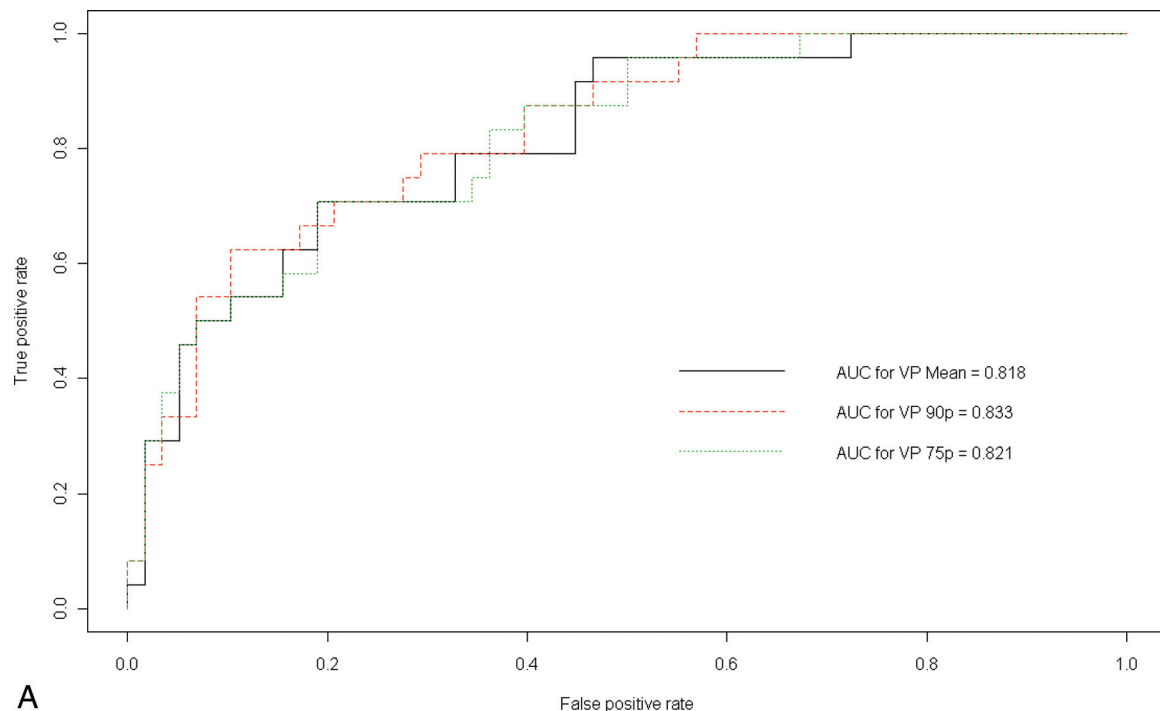
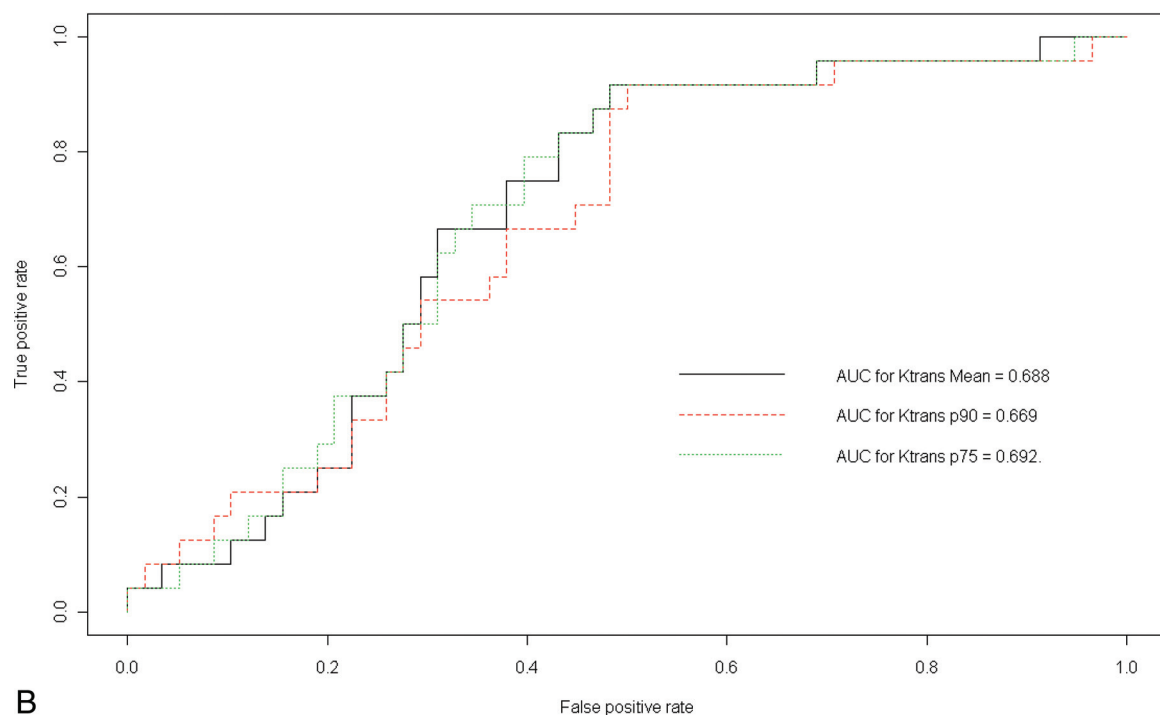


FIG 1. Representative DCE-MR images and parametric maps from a patient with EGFRvIII-positive glioblastoma. Axial contrast T1-weighted (A) image demonstrates a large heterogeneously enhancing tumor in the right frontal lobe. Corresponding VP (B) and K^{trans} (C) maps reveal increased perfusion and increased leakiness, respectively, as indicated by the arrows. Matching images in a non-EGFRvIII glioblastoma in the right frontal lobe (D–F) show little increase in VP or K^{trans} .



A



B

FIG 2. Discrimination power of baseline VP (A) and K^{trans} (B) perfusion parameters for EGFR status (positive versus negative).

tions in primary glioblastomas.¹³⁻¹⁵ In addition to promoting cellular growth and proliferation, EGFRvIII accelerates tumor angiogenesis and induction of proangiogenic factors, including vascular endothelial growth factor, interleukin 18, and angiopoietin-like 4 in the extracellular signal-regulated kinase and *c-Myc* pathways, to confer a more heterogeneous and aggressive phenotype.¹⁶⁻¹⁹ These increases in angiogenic activity in patients with

EGFRvIII may manifest at DCE-MR imaging as increased VP, which is a measure of the tumor blood plasma volume per unit volume of tissue, and as increased K^{trans} , the volume transfer constant between the blood plasma and the extravascular extracellular space.

Due to its unique protein sequence and tumor-specific expression, EGFRvIII is an attractive target for drug therapy. Several

small molecular tyrosine kinase inhibitors with affinity for the *EGFR* receptor are available on the market and under development in clinical trials.²⁰ A glioblastoma vaccine based on a unique EGFRvIII peptide sequence is currently under investigation in a phase III clinical trial.²¹ Effective implementation of these novel targeted therapies will require parallel development of targeted imaging technologies such as DCE–MR imaging, also specific for particular mutations.

Perfusion on MR imaging has been shown to correlate with glioma grade, prognosis, and response to treatment.^{22–26} Perfusion parameters may be useful as imaging markers of vascular attenuation and angiogenesis in gliomas.^{2,27} Increased relative tumor blood volume shown by DSC perfusion MR imaging has been associated with EGFR amplification and EGFRvIII mutation.^{5,7} The T2* technique may render DSC–MR imaging inadequate, however, in areas with leakage of contrast through an abnormal blood–brain barrier or in areas with strong susceptibility artifacts due to blood, vessel, bone, and air interfaces such as those near the skull base.^{10–28} DCE–MR imaging offers several potential advantages,⁸ the most important of which is the more accurate quantification of perfusion and leakiness through greater spatial resolution, steady-state imaging, and advanced compartmental modeling.^{8–10} We also advocate the use of histogram analysis after whole-tumor VOI evaluation, which should yield measurements that are more objective and reproducible and less user-dependent than those obtained with the usual ROI-based methods.^{7–29}

There are a few potential limitations to the present study. First, this retrospective study included patients with glioblastoma with EGFRvIII status determined by reverse transcriptase polymerase chain reaction. Whole exome sequencing was not available for these patients, so we did not account for other mutations or amplifications in EGFR that may also correlate with changes in DCE–MR imaging. Our observed frequency of mutant EGFRvIII, however, was consistent with the frequency reported in the literature.^{5–30} Second, given the retrospective nature of this study, an inherent limitation is the absence of stereotactic localization in cases of biopsy or subtotal resection. Tissue sampling error may confound the assessment of EGFRvIII status (ie, undersampling of less metabolically active areas in heterogeneous tumors may lead to erroneous correlations, eg, false-negatives). Third, the VOIs were manually drawn around the enhancing tumor and then transferred onto the coregistered DCE–MR imaging perfusion maps, which may have introduced bias and variability. For example, subjectivity would be expected in terms of exclusion of vessels within the lesions. To account for this subjectivity, we inspected the VOIs in each case and adjusted them as necessary to match the enhancing tumor. To reduce operator variability, we chose to have all of these steps performed by a single experienced user trained in the use of the DCE–MR imaging software. Other groups have advocated semiautomated segmentation and coregistration; however, the validity and interinstitutional reproducibility of results obtained with their proprietary tools, which were developed in-house, remain unproven.³¹ We believe that the expertise of a trained user of commercially available DCE–MR imaging software best matches the expertise available at most institutions and broadens the applicability of our results. A dual-rater

or multiple-rater consensus approach could have also been an optimal way to assess uniform ROI placement.

CONCLUSIONS

We found that EGFRvIII-positive glioblastomas demonstrate greater vascular leakiness and perfusion than do EGFRvIII-negative glioblastomas. Quantitative evaluation of DCE–MR imaging may be useful as a noninvasive tool for correlating EGFRvIII expression and related tumor neoangiogenesis. This may have implications for monitoring response to EGFRvIII-targeted therapies.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful for the expert editorial advice provided by Ada Muellner, MS.

Disclosures: Julio Arevalo-Perez—OTHER RELATIONSHIPS: Research fellow at the Memorial Sloan Kettering Cancer Center supported by a grant from the Spanish foundation “Fundación Alfonso Martín Escudero.” Andrei I. Holodny—UNRELATED: Other: fMRI Consulting, LLC, Comments: a purely educational endeavor. Robert J. Young—UNRELATED: Payment for Development of Educational Presentations: Novocure; Travel/Accommodations/Meeting Expenses Unrelated to Activities Listed: Agios.

REFERENCES

- Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups, National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. **Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma.** *N Engl J Med* 2005;352:987–96 CrossRef Medline
- Jain R, Poisson L, Narang J, et al. **Correlation of perfusion parameters with genes related to angiogenesis regulation in glioblastoma: a feasibility study.** *AJNR Am J Neuroradiol* 2012;33:1343–48 CrossRef Medline
- Huang PH, Xu AM, White FM. **Oncogenic EGFR signaling networks in glioma.** *Sci Signal* 2009;2:re6 CrossRef Medline
- Mellinghoff IK, Wang MY, Vivanco I, et al. **Molecular determinants of the response of glioblastomas to EGFR kinase inhibitors.** *N Engl J Med* 2005;353:2012–24 CrossRef Medline
- Gupta A, Young RJ, Shah AD, et al. **Pretreatment dynamic susceptibility contrast MRI perfusion in glioblastoma: prediction of EGFR gene amplification.** *Clin Neuroradiol* 2015;25:143–50 CrossRef Medline
- Kastenhuber ER, Huse JT, Berman SH, et al. **Quantitative assessment of intragenic receptor tyrosine kinase deletions in primary glioblastomas: their prevalence and molecular correlates.** *Acta Neuropathol* 2014;127:747–59 CrossRef Medline
- Tykocinski ES, Grant RA, Kapoor GS, et al. **Use of magnetic perfusion-weighted imaging to determine epidermal growth factor receptor variant III expression in glioblastoma.** *Neuro Oncol* 2012;14: 613–23 CrossRef Medline
- Essig M, Shiroishi MS, Nguyen TB, et al. **Perfusion MRI: the five most frequently asked technical questions.** *AJR Am J Roentgenol* 2013;200:24–34 CrossRef Medline
- Cao Y, Sundgren PC, Tsien CI, et al. **Physiologic and metabolic magnetic resonance imaging in gliomas.** *J Clin Oncol* 2006;24:1228–35 CrossRef Medline
- Shin KE, Ahn KJ, Choi HS, et al. **DCE and DSC MR perfusion imaging in the differentiation of recurrent tumour from treatment-related changes in patients with glioma.** *Clin Radiol* 2014;69:e264–72 CrossRef Medline
- Jung SC, Yeom JA, Kim JH, et al. **Glioma: application of histogram analysis of pharmacokinetic parameters from T1-weighted**

- dynamic contrast-enhanced MR imaging to tumor grading. *AJNR Am J Neuroradiol* 2014;35:1103–10 [CrossRef Medline](#)
12. Tofts PS, Brix G, Buckley DL, et al. Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T(1)-weighted MRI of a diffusible tracer: standardized quantities and symbols. *J Magn Reson Imaging* 1999;10:223–32 [CrossRef Medline](#)
 13. Brennan CW, Verhaak RG, McKenna A, et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell* 2013;155:462–77 [CrossRef Medline](#)
 14. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 2008;455:1061–68 [CrossRef Medline](#)
 15. Heimberger AB, Hlatky R, Suki D, et al. Prognostic effect of epidermal growth factor receptor and EGFRvIII in glioblastoma multiforme patients. *Clin Cancer Res* 2005;11:1462–66 [CrossRef Medline](#)
 16. Hirata A, Ogawa S, Kometani T, et al. ZD1839 (Iressa) induces anti-angiogenic effects through inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res* 2002;62:2554–60 [Medline](#)
 17. Ali MM, Janic B, Babajani-Feremi A, et al. Changes in vascular permeability and expression of different angiogenic factors following anti-angiogenic treatment in rat glioma. *PLoS One* 2010;5:e8727 [CrossRef Medline](#)
 18. Katanasaka Y, Koderia Y, Kitamura Y, et al. Epidermal growth factor receptor variant type III markedly accelerates angiogenesis and tumor growth via inducing c-myc mediated angiopoietin-like 4 expression in malignant glioma. *Mol Cancer* 2013;12:31 [CrossRef Medline](#)
 19. Inda MM, Bonavia R, Mukasa A, et al. Tumor heterogeneity is an active process maintained by a mutant EGFR-induced cytokine circuit in glioblastoma. *Genes Dev* 2010;24:1731–45 [CrossRef Medline](#)
 20. Thomas AA, Brennan CW, DeAngelis LM, et al. Emerging therapies for glioblastoma. *JAMA Neurol* 2014;71:1437–44 [CrossRef Medline](#)
 21. Xu LW, Chow KK, Lim M, et al. Current vaccine trials in glioblastoma: a review. *J Immunol Res* 2014;2014:796856 [CrossRef Medline](#)
 22. Mills SJ, Patankar TA, Haroon HA, et al. Do cerebral blood volume and contrast transfer coefficient predict prognosis in human glioma? *AJNR Am J Neuroradiol* 2006;27:853–58 [Medline](#)
 23. Law M, Oh S, Babb JS, et al. Low-grade gliomas: dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging—prediction of patient clinical response. *Radiology* 2006;238:658–67 [CrossRef Medline](#)
 24. Aronen HJ, Gazit IE, Louis DN, et al. Cerebral blood volume maps of gliomas: comparison with tumor grade and histologic findings. *Radiology* 1994;191:41–51 [CrossRef Medline](#)
 25. Ellika SK, Jain R, Patel SC, et al. Role of perfusion CT in glioma grading and comparison with conventional MR imaging features. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007;28:1981–87 [CrossRef Medline](#)
 26. Wetzel SG, Cha S, Johnson G, et al. Relative cerebral blood volume measurements in intracranial mass lesions: interobserver and intraobserver reproducibility study. *Radiology* 2002;224:797–803 [CrossRef Medline](#)
 27. Jain R, Gutierrez J, Narang J, et al. In vivo correlation of tumor blood volume and permeability with histologic and molecular angiogenic markers in gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol* 2011;32:388–94 [CrossRef Medline](#)
 28. Fatterpekar GM, Galheigo D, Narayana A, et al. Treatment-related change versus tumor recurrence in high-grade gliomas: a diagnostic conundrum—use of dynamic susceptibility contrast-enhanced (DSC) perfusion MRI. *AJR Am J Roentgenol* 2012;198:19–26 [CrossRef Medline](#)
 29. Young R, Babb J, Law M, et al. Comparison of region-of-interest analysis with three different histogram analysis methods in the determination of perfusion metrics in patients with brain gliomas. *J Magn Reson Imaging* 2007;26:1053–63 [CrossRef Medline](#)
 30. Gan HK, Kaye AH, Luwor RB. The EGFRvIII variant in glioblastoma multiforme. *J Clin Neurosci* 2009;16:748–54 [CrossRef Medline](#)
 31. Jung SC, Choi SH, Yeom JA, et al. Cerebral blood volume analysis in glioblastomas using dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion MRI: a comparison of manual and semiautomatic segmentation methods. *PLoS One* 2013;8:e69323 [CrossRef Medline](#)

ANEXO 2: informes de evaluación



Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	Julio Arevalo Perez
Título de la Tesis	UTILIDAD DE LA PERFUSIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA DINÁMICA CON CONTRASTE POTENCIADA EN T1 EN LA VALORACIÓN DE NEOPLASIAS DE SNC Y CAMBIOS INDUCIDOS EN LA MÉDULA ÓSEA DE COLUMNA VERTEBRAL
Facultad o Centro	Facultad de Medicina

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre Completo	Ana Ramos Gonzalez
Centro al que pertenece y dirección	Servicio de Radiología, Hospital Universitario 12 de Octubre Facultad de Medicina, Universidad Complutense
D.N.I/Pasaporte	13746806M
e-mail	ramosana3@yahoo.es

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	x			
Definición Objetivos	x			
Metodología	x			
Relevancia Resultados	x			
Discusión / Conclusiones	x			

INFORME (en caso necesario se podrán añadir mas hojas):

La Tesis Doctoral presentada para defensa está avalada por 3 artículos de alto impacto en neuroimagen.

Las nuevas técnicas de perfusión dinámicas con contraste estan introduciendose en los estudios de neurorradiología como demuestra el doctorando y aportan información importante en los diagnosticos radiologicos. En este trabajo se recogen a traves de tres publicaciones relevantes la utilidad de las técnicas de perfusión dinámica con secuencias potenciadas en T1: a) en el estudio de la médula ósea de los cuerpos vertebrales para diferenciar fracturas malignas de benignas, b)junto con las técnicas de difusión para mejorar la gradación de gliomas, c)como marcador no invasivo para valorar el estatus de EGFRvIII en tumores del SNC. El trabajo de investigación realizado tienen alto nivel científico y puede ser presentado para su defensa como Tesis Doctoral.

Madrid, a 1 de Septiembre de 2015

Fdo.:
Ana Ramos Gonzalez

Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Postgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.



Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	Julio Arevalo Perez
Título de la Tesis	UTILIDAD DE LA PERFUSIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA DINÁMICA CON CONTRASTE POTENCIADA EN T1 EN LA VALORACIÓN DE NEOPLASIAS DE SNC Y CAMBIOS INDUCIDOS EN LA MÉDULA ÓSEA DE COLUMNA VERTEBRAL
Facultad o Centro	Facultad de Medicina

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre Completo	Kyung K. Peck
Centro al que pertenece y dirección	Department of Radiology and Medical Physics, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center 1274 York Avenue, 10065 New York, NY, USA
D.N.I./Pasaporte	M87545334
e-mail	peckk@mskcc.org

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	x			
Definición Objetivos	x			
Metodología	x			
Relevancia Resultados	x			
Discusión / Conclusiones	x			

INFORME (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

My name is Kyung K. Peck. I hold a PhD degree in Medical Physics obtained from the University of Nottingham in England. I am currently working as an Associate Professor in Physics at the Department of Medical Physics and Radiology at Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) in New York, USA.

I have been closely working with Julio for almost two years on the three projects that he presents in his PhD thesis. His work represents the applicability of Dynamic Contrast

Enhanced perfusion MRI which is a new emerging contrast MRI technique, into Neuroradiology. Each project emphasizes the advantages of DCE MRI over other perfusion methods and demonstrates different applications of the technique as a potential diagnostic tool in everyday clinical practice. All three articles have been published in prestigious international journals such as JMIR, Journal of Neuroimaging and AJNR, which does not live any doubts about the relevance of the works. In addition, they have also been presented in international conferences such as the RSNA (Radiology Society of North America) and the ASNR (American Society of Neuro Radiology).

Allow me to add that Julio has helped to create a happier and more productive research team and we are looking forward to keeping working with him. I am sure he would be a successful scientist as well as a remarkable physician in his future academic carrier.

Sincerely,



Kyung K. Peck

New York, August 31st, 2015

Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.



Informe del Director de la Tesis Doctoral

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	Julio Arevalo Perez
Título de la Tesis	UTILIDAD DE LA PERFUSIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA DINÁMICA CON CONTRASTE POTENCIADA EN T1 EN LA VALORACIÓN DE NEOPLASIAS DE SNC Y CAMBIOS INDUCIDOS EN LA MÉDULA ÓSEA DE COLUMNA VERTEBRAL
Facultad o Centro	Facultad de Medicina

DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre Completo	Jose Fermin Perez-Regadera Gomez
Centro al que pertenece y dirección	Servicio de Radiología, Hospital Universitario 12 de Octubre Facultad de Medicina, Universidad Complutense
D.N.I./Pasaporte	08785356T
e. mail	jpregadera@gmail.com

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	x			
Definición Objetivos	x			
Metodología	x			
Relevancia Resultados	x			
Discusión / Conclusiones	x			

INFORME (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

El Doctorando Julio Arevalo Pérez, presenta para su defensa como tesis doctoral el trabajo UTILIDAD DE LA PERFUSIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA DINÁMICA CON CONTRASTE POTENCIADA EN T1 EN LA VALORACIÓN DE NEOPLASIAS DE SNC Y CAMBIOS INDUCIDOS EN LA MÉDULA ÓSEA DE COLUMNA VERTEBRAL que ha sido confeccionada con casos clínicos del Memorial Sloan-Kettering Cancer Center y que ha sido publicada parcelariamente en tres artículos científicos en revistas prestigiosas dentro de la neuroimagen:

1. DIFFERENTIATING BENIGN FROM MALIGNANT VERTEBRAL FRACTURES USING T1-WEIGHTED DYNAMIC CONTRAST ENHANCED MRI (Journal of Magnetic Resonance Imaging)
2. DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED PERFUSION MRI AND DIFFUSION WEIGHTED IMAGING IN GRADING OF GLIOMAS (Journal of Neuroimaging)
3. T1-WEIGHTED DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED MRI AS A NONINVASIVE BIOMARKER OF EGFRvIII STATUS (American Journal of Neuroradiology).

En el trabajo de investigación realizado se evalúa el impacto diagnóstico de las técnicas de RM en el diagnóstico y gradación de los gliomas, así como su ayuda en la caracterización de la presencia de mutación del EGFR (EGFRvIII). La revisión bibliográfica efectuada, el número de casos estudiados y el soporte metodológico y estadístico de los resultados obtenidos así como las conclusiones son de indudable interés, por otra parte el refrendo científico alcanzado por su publicación en revistas de prestigio hacen que el trabajo pueda ser presentado para su defensa como Tesis Doctoral

Madrid, a 01 de Septiembre de 2015

Fdo.: José Fermín Pérez-Regadera Gómez

Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.



Informe de los evaluadores especialistas en la materia de la Tesis Doctoral para su admisión a trámite (Artº 4.9 b) y 4.9 c) de la Normativa de desarrollo de los artículos 21 y 22 del R.D. 1393/2007.

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	JULIO AREVALO PÉREZ
Título de la Tesis	UTILIDAD DE LA PERFUSIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA DINÁMICA CON CONTRASTE POTENCIADA EN T1 EN LA VALORACIÓN DE NEOPLASIAS DE SNC Y CAMBIOS INDUCIDOS EN LA MÉDULA ÓSEA DE COLUMNA VERTEBRAL
Facultad o Centro	MEDICINA

DATOS DEL EVALUADOR		
Nombre	SERGIO ALONSO CHARTERINA	
Centro	FACULTAD DE MEDICINA UCM	
D.N.I.	09379469T	
Deberá indicarse si es interno o Externo al programa de posgrado	Interno (táchese lo que proceda)	Externo (táchese lo que proceda)

VALORACIÓN DE LA TESIS				
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	X			
Definición Objetivos	X			
Metodología	X			
Relevancia Resultados	X			
Discusión / Conclusiones	X			

INFORME RAZONADO:

El Doctorando ha sabido plasmar en la Tesis Doctoral todo lo que se espera de un programa de Doctorando, es decir, una idea de investigación bien escrita, con un excelente trabajo de diseño, metodología y elaboración de datos.

La introducción nos introduce correctamente en la aplicación de la técnica de perfusión dinámica con contraste potenciada en T1 y su posible utilización en la clasificación de los gliomas, en la diferenciación de fracturas vertebrales benignas y malignas y como marcador no invasivo del estado del EGFRvIII. En material, métodos y resultados presenta 3 artículos en los que es primer autor publicados en revistas de impacto, importantes en radiología. Ofrece además unos resultados prácticos en una secuencia, perfusión T1, que no ha sido muy utilizada en neurorradiología hasta los últimos años. La discusión y conclusiones se basan en los resultados de los artículos abriendo incluso la posibilidad de utilización de estas secuencias en la práctica clínica habitual.

En definitiva, creo que se trata de un trabajo bien diseñado reforzado y avalado por la publicación de 3 artículos sobre la utilidad de las secuencias de perfusión dinámicas con contraste en la patología metastásica vertebral y en tumores primarios del SNC que merece ser tomada en consideración para su presentación y obtención del Título de Doctor

Madrid, a 9 de Septiembre de 2015

Fdo.:

Dr Sergio Alonso Charterina

Este impreso deberá entregarse al responsable del Programa de Doctorado para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral (artº 4.13 de la Normativa de desarrollo de los artículos 24 y 22 del R.D. 1393/2007).



Informe de los evaluadores especialistas en la materia de la Tesis Doctoral para su admisión a trámite (Artº 4.9 b) y 4.9 c) de la Normativa de desarrollo de los artículos 21 y 22 del R.D. 1393/2007.

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL	
Nombre del Doctorando	D. Julio Arévalo Pérez
Título de la Tesis	UTILIDAD DE LA PERFUSIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA DINÁMICA CON CONTRASTE POTENCIADA EN T1 EN VALORACIÓN DE NEOPLASIAS DEL SNC Y CAMBIOS INDUCIDOS EN LA MEDULA OSEA DE COLUMNA VERTEBRAL
Facultad o Centro	MEDICINA

DATOS DEL EVALUADOR			
Nombre	JUAN ANTONIO HERNANDEZ TAMAMES		
Centro	ESCUELA SUPERIOR DE CC. EXPERIMENTALES Y TECNOLOGÍA. UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS		
D.N.I.	50.824.580P		
Deberá indicarse si es interno o Externo al programa de posgrado	Interno (táchese lo que proceda)	Externo X	

	VALORACIÓN DE LA TESIS			
	Muy Buena	Buena	Suficiente	Deficiente
Originalidad	X			
Definición Objetivos	X			
Metodología	X			
Relevancia Resultados	X			
Discusión / Conclusiones	X			

INFORME RAZONADO:

(continuar en el reverso o adjuntar cuantas hojas adicionales considere oportuno)

Tras la lectura pormenorizada de la tesis de D. Julio Arévalo Pérez considero que la misma cumple con el requisito de contribución científica original avalada por publicaciones internacionales en revistas con alto factor de impacto. El candidato a doctor ha realizado parte de este trabajo en colaboración con investigadores y centros internacionales de reconocido prestigio lo cual redunda en la valoración positiva de la misma. El manuscrito recoge el estado del arte, la metodología científica empleada, los hallazgos más relevantes y establece las conclusiones de manera adecuada a las hipótesis planteadas. Por todo ello considero que la tesis reúne todas las condiciones para ser defendida.

Madrid, a 30 de Septiembre de 2015

Fdo.: Juan Antonio Hernández Tamames

Este impreso deberá entregarse al responsable del Programa de Doctorado para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral (artº 4.13 de la Normativa de desarrollo de los artículos 21 y 22 del R.D. 1393/2007).

Stretta è la soglia, larga è la via, dite la vostra che ho detto la mia.

Proverbio italiano.